

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

## Untersuchungen zur Impfung gegen canine Parvoviren

von Monika Freisl (geb. Riedl)  
aus Garmisch-Partenkirchen

München 2020



Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Innere Medizin der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Korreferenten: Univ.-Prof. Dr. Gabriela Knubben  
Univ.-Prof. Dr. Gerd Sutter  
Priv.-Doz. Dr. Dorothea Döring  
Priv.-Doz. Dr. Petra Kölle

Tag der Promotion: 8. Februar 2020



Meiner Familie





## INHALTSVERZEICHNIS

<b>I.</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>PROPHYLAXE DER CANINEN PARVOVIROSE .....</b>	<b>3</b>
<b>1.</b>	<b>Antikörper gegen canine Parvoviren.....</b>	<b>3</b>
1.1.	Entstehung von Antikörpern .....	9
1.1.1.	Maternale Antikörper .....	10
1.1.2.	Passive Übertragung von Antikörpern .....	19
1.1.3.	Antikörper nach Infektion .....	26
1.1.4.	Antikörper nach Impfung .....	30
1.2.	Antikörperprävalenz .....	42
<b>2.</b>	<b>Aktive Impfung.....</b>	<b>62</b>
2.1.	Impfstoffe .....	64
2.1.1.	Herstellung und Bewertung der Wirksamkeit .....	64
2.1.2.	In Deutschland zugelassene Impfstoffe gegen canine Parvovirose.....	72
2.1.3.	Unterschiede von modifizierten Lebendvakzinen und Impfstoffen aus inaktiviertem Virus.....	75
2.1.3.1.	Wirksamkeit und Sicherheit .....	75
2.1.3.2.	Lagerung und Handling.....	86
2.1.3.3.	Kosten.....	87
2.2.	Impfleitlinien .....	87
2.3.	Impfungsassoziierte Probleme .....	96
2.3.1.	Unerwünschte Wirkungen .....	102
2.3.1.1.	Typ-I-Hypersensitivitätsreaktionen.....	104
2.3.1.2.	Typ-II-Hypersensitivitätsreaktionen .....	109
2.3.1.2.1.	Immunmedierte hämolytische Anämie .....	113
2.3.1.2.2.	Immunmedierte Thrombozytopenie .....	115
2.3.1.2.3.	Lymphozytäre Thyreoiditis .....	118
2.3.1.2.4.	Interstitielle Nephritis.....	121
2.3.1.2.5.	Akute immunmedierte Polyradikuloneuritis .....	122
2.3.1.3.	Typ-III-Hypersensitivitätsreaktionen .....	126
2.3.1.3.1.	Antikörper-Exzess-Typ-III-Hypersensitivitätsreaktionen.....	127
2.3.1.3.2.	Antigen-Exzess-Typ-III-Hypersensitivitätsreaktionen.....	129
2.3.1.4.	Typ-IV-Hypersensitivitätsreaktionen .....	137

2.3.1.5.	Unspezifische systemische Reaktionen.....	138
2.3.1.6.	Immunsuppression.....	138
2.3.1.7.	Lokale Reaktionen an der Impfstelle.....	141
2.3.1.8.	Injektionsstellenassoziierte Tumoren .....	142
2.3.1.9.	Erkrankungen durch Kontamination und Residualvirulenz .....	145
2.3.1.10.	Impfversagen und Interferenz mit diagnostischen Tests .....	145
2.3.2.	Impfversagen .....	145
2.3.2.1.	Faktoren, die den Hund betreffen.....	149
2.3.2.1.1.	Alter .....	151
2.3.2.1.2.	Gewicht .....	154
2.3.2.1.3.	Geschlecht .....	155
2.3.2.1.4.	Trächtigkeit .....	158
2.3.2.1.5.	Stress .....	160
2.3.2.1.6.	Körperliche Belastung.....	166
2.3.2.1.7.	Außentemperatur .....	169
2.3.2.1.8.	Schadstoffe, Toxine und Strahlenbelastung .....	170
2.3.2.1.9.	Ernährung .....	171
2.3.2.1.10.	Intestinales Mikrobiom.....	175
2.3.2.1.11.	Genetische Faktoren .....	175
2.3.2.1.12.	Krankheiten .....	177
2.3.2.1.13.	Medikamente .....	184
2.3.2.1.14.	Anästhesie und Operationen.....	195
2.3.2.2.	Faktoren, die den Impfstoff betreffen.....	196
2.3.2.2.1.	Impfstämme und Impfstoffherstellung.....	197
2.3.2.2.2.	Transport, Lagerung und Handling .....	202
2.3.2.2.3.	Impfstoffverabreichung .....	203
2.3.2.2.4.	Impfschema .....	204
2.3.3.	Ausscheidung von Impfvirus.....	211
<b>III.</b>	<b>PUBLIKATION I .....</b>	<b>219</b>
<b>IV.</b>	<b>PUBLIKATION II .....</b>	<b>229</b>
<b>V.</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>237</b>
<b>VI.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>255</b>
<b>VII.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>257</b>

---

<b>VIII.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>259</b>
<b>IX.</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>407</b>



## TABELLENVERZEICHNIS

<b>Tabelle 1:</b>	Immunglobuline in der Milch und im Kolostrum von Hunden (in Anlehnung an SCHÄFER-SOMI et al., 2005) .....	13
<b>Tabelle 2:</b>	In Deutschland zugelassene Immunseren gegen canine Parvovirose.....	24
<b>Tabelle 3:</b>	Langzeitstudien zur Untersuchung der Effektivität und Immunitätsdauer nach Impfung gegen canine Parvovirose mittels Antikörpernachweis und Belastungsversuch über einen Zeitraum von mindestens einem Jahr .....	33
<b>Tabelle 4:</b>	Studien zur Prävalenz von Antikörpern gegen canine Parvoviren aus den letzten 20 Jahren .....	44
<b>Tabelle 5:</b>	Merkmale eines idealen Impfstoffs (in Anlehnung an POVEY & CARMAN, 1997a) .....	65
<b>Tabelle 6:</b>	In Deutschland zugelassene Impfstoffe gegen canine Parvovirose.....	72
<b>Tabelle 7:</b>	Vor- und Nachteile von modifizierten Lebendvakzinen und Impfstoffen aus inaktiviertem Virus (in Anlehnung an DESMETTRE & MARTINOD, 1997a; POVEY & CARMAN, 1997b; VAN OIRSCHOT, 1997b; TIZARD, 2018h) .....	75
<b>Tabelle 8:</b>	Leitlinien zur Impfung von Hunden gegen canine Parvovirose .....	89
<b>Tabelle 9:</b>	Anzahl an unerwünschten Reaktionen pro 10.000 verkaufter Hundeimpfdosen exklusive Tollwut, die zwischen 01.01.2010 und 30.06.2014 bei der Canadian Food Inspection Agency im Canadian Centre for Veterinary Biologics gemeldet wurden (in Anlehnung an VALLI, 2015).....	99
<b>Tabelle 10:</b>	Anzahl der beim PEI eingegangenen Meldungen über unerwünschte Reaktionen bei immunologischen Arzneimitteln für Hunde in den Jahren 1998 bis 2015 (Daten entnommen aus den Pharmakovigilanzberichten HOFFMANN et al., 2003; HOFFMANN et al., 2005a, 2005b, 2006, 2007, 2008; HOFFMANN et al., 2010; HOFFMANN et al., 2011; HOFFMANN et al., 2012; HOFFMANN et al., 2013, 2015, 2016).....	100
<b>Tabelle 11:</b>	Aufschlüsselung der allergischen Reaktionen nach der Impfung von Hunden in Japan entsprechend den eingesetzten Vakzinen exklusive Tollwut (Daten entnommen aus OHMORI et al., 2005b) .....	101

---

<b>Tabelle 12:</b> Anzahl der beim UK Suspected Adverse Reaction Surveillance Scheme (SARSS) eingegangenen Meldungen über vermutete mangelnde Wirksamkeit von CPV-Impfstoffen (Daten entnommen aus den Pharmakovigilanzberichten DYER et al., 2007, 2008; DYER et al., 2009; DYER et al., 2010, 2011).....	146
<b>Tabelle 13:</b> Nährstoffe, die die Immunantwort älterer Hunde verbessern können....	174
<b>Tabelle 14:</b> Infektionen, die direkt mit einer Immunsuppression assoziiert sind und mit der Impfung von Hunden interferieren können (in Anlehnung an RASMUSSEN & ARVIN, 1982; MUNEER et al., 1988; POVEY & CARMAN, 1997f).....	179
<b>Tabelle 15:</b> Therapeutische Agenzien, die mit einer Immunsuppression oder Immunmodulation assoziiert sind (Daten entnommen aus BRITISH MEDICAL JOURNAL, 1968; FINCH, 1980; RASMUSSEN & ARVIN, 1982; MUNEER et al., 1988; POVEY & CARMAN, 1997f; RUSLANDER, 2005; INITIATIVE TIERMEDIZINISCHE SCHMERZTHERAPIE (ITIS), 2012; CULMAN, 2014; DAY & SCHULTZ, 2014n; HERDEGEN, 2014; REX & HAMANN, 2016; TIZARD, 2018r, 2018n).....	185

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<b>Abbildung 1:</b> Antikörperentwicklung nach Impfung mit MLV und Impfstoffen aus inaktiviertem Virus im Vergleich (in Anlehnung an GREENE & LEVY, 2012).....	84
<b>Abbildung 2:</b> Normalverteilung der Immunantworten innerhalb einer Population geimpfter Tiere (in Anlehnung an TIZARD, 2018i) .....	148
<b>Abbildung 3:</b> Faktoren, die den Impferfolg beeinflussen können (eigene Darstellung) .....	149
<b>Abbildung 4:</b> Kritische Phase bei der Impfung gegen canine Parvovirose (in Anlehnung an DAY & SCHULTZ, 2014k).....	208





**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

%	Prozent
×	mal
®	registered trademark (registrierte Warenmarke)
™	trademark (anerkannte, aber (noch) nicht registrierte Warenmarke)
>	Vergleichszeichen: größer als
≥	Vergleichszeichen: größer oder gleich als
<	Vergleichszeichen: kleiner als
≤	Vergleichszeichen: kleiner oder gleich als
↑	Steigerung
↓	Verminderung
°C	Grad Celsius
Alb	Albumin
AAHA	American Animal Hospital Association
ABCD	European Advisory Board on Cat Diseases
ACVIM	American College of Veterinary Internal Medicine
ADCC	antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität)
BCG	Bacillus-Calmette- Guérin
BSA	bovines Serumalbumin
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CAV-1	canines Adenovirus-1
CAV-2	canines Adenovirus-2

CCoV	canines Coronavirus
CD	cluster of differentiation (Oberflächenantigene zur Unterscheidung von Zellgruppen)
CDV	canine distemper virus (canines Staupevirus)
CNI	chronische Niereninsuffizienz
Con A	Concanavalin A
CPV	canines Parvovirus
CPV-2	canines Parvovirus-2
CPV-2a	canines Parvovirus-2a
CPV-2b	canines Parvovirus-2b
CPV-2c	canines Parvovirus-2c
CPiV-2	canines Parainfluenzavirus-2
CRFK	Crandell-Rees feline kidney
CRH	corticotropin-releasing hormone (Kortikotropin- Releasing-Hormon)
DENV	Dengue-Fieber-Virus
DIVA (-Vak- zinen)	differentiating infected from vaccinated animals (Markerimpfstoffe, die es erlauben, geimpfte von infizierten Tieren zu unterscheiden)
DLA	dog leukocyte antigen (Hunde-Leukozyten- Antigen)
DNA	deoxyribonucleic acid (Desoxyribonuklein- säure)
DOI	duration of immunity (Dauer der Immunität)
DPC	day(s) post challenge (Tag(e) nach Infektionsversuch)

DTH	delayed type hypersensitivity (verzögerte Hyper-sensitivitätsreaktion)
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay (enzymgekoppelter Immunadsorptionstest)
EMA	European Medicines Agency (Europäische Arzneimittel-Agentur)
et al.	et alii (und andere)
EU	Europäische Union
FCV	felines Calicivirus
FeLV	felines Leukämievirus
FHV-1	felines Herpesvirus-1
FISS	feline injection-site sarcoma (felines injektions-stellenassoziiertes Fibrosarkom)
FIV	felines Immunschwächevirus
FLI	Friedrich-Loeffler-Institut
FPV	felines Panleukopenievirus
FSME	Frühsommer-Meningoenzephalitis
g	Gramm
GBS	Guillain-Barré-Syndrom
ggf.	gegebenenfalls
GI	Grundimmunisierung
GKID <sub>50</sub>	Gewebekultur-infektiöse Dosis 50 %
GMT	geometrischer Mitteltiter
HA	Hämagglutinationstest
HAH	Hämagglutinations-hemmtest
HCC	Hepatitis contagiosa canis

HOD	hypertrophe Osteodystrophie
IE	Internationale Einheit
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
IFT	Immunfluoreszenztest
IgA	Immunglobulin-A
IgE	Immunglobulin-E
IgG	Immunglobulin-G
IgM	Immunglobulin-M
IL-2	Interleukin-2
IL-10	Interleukin-10
IL-31	Interleukin-31
i. m.	intramuskulär
IME	integrated metric of evidence (integriertes Evidenz-maß)
IMHA	immunmedierte hämolytische Anämie
IMPA	immunmedierte Polyarthritis
ITP	immunmedierte Thrombozytopenie
J	Jahr(e)
k. A.	keine Angabe
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
KLH	keyhole limpet hemocyanin (Schlitzschnecken-Hämocyanin)
KOF	Körperoberfläche
l	Liter
M	Monat(e)
m <sup>2</sup>	Quadratmeter
MDA	maternally derived antibodies (maternale Antikörper)
MDCK	Madin-Darby canine kidney
MEV	mink enteritis virus

	(Nerz-Enteritis-Virus)
mg	Milligramm
MGB (-Sonden)	minor groove binder (Sonden, die an die kleine Furche der doppelsträngigen DNA binden)
MHC	major histo- compatibility complex (Haupthistokompati- bilitätskomplex)
mind.	mindestens
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
MLV	modifizierte Lebendvakzine(n)
MMR	Masern-Mumps-Röteln
MPS	mononukleär- phagozytäres System
mTOR	mechanistic target of rapamycin (Serin-/Threonin- spezifische Proteinkinase, die durch Rapamycin inhibiert werden kann)
MW	Mittelwert
n	Anzahl der Probanden
ND <sub>50</sub>	neutralisierende Dosis 50 %
ng	Nanogramm
PAT	protective antibody titre (protektiver Antikörpertiter)
PCR	polymerase chain reaction (Polymerase- Kettenreaktion)
PEI	Paul-Ehrlich-Institut
PF	preventable fraction (geschützte Fraktion)
PGE-2	Prostaglandin-E2
PHA	Phytohämagglutinin
POCT	point-of-care-testing

	(patientennahe Schnelldiagnostik)
p. p.	post partum
PWM	Pokeweed-Mitogen
qPCR	real-time quantitative polymerase chain reaction (quantitative Echtzeit- Polymerase- Kettenreaktion)
RA	rheumatoide Arthritis
SAE	suspected adverse events (vermutete unerwünschte Wirkungen)
SAR	suspected adverse reactions (vermutete unerwünschte Reaktionen)
SARSS	Suspected Adverse Reaction Surveillance Scheme
s. c.	subkutan
SD	standard deviation (Standardabweichung)
SNT	Serumneutralisations- test
spp.	Spezies
SPF	spezifisch pathogenfrei
SRBC	sheep red blood cells (Schafererythrozyten)
STIKO	Ständige Impfkommission am Robert-Koch-Institut
StIKo Vet	Ständige Impfkommission Veterinärmedizin am Friedrich-Loeffler- Institut
T	Tag(e)
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
TP	Totalprotein
u. a.	unter anderem

UK	United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland (Vereinigtes Königreich Großbritannien und Nordirland)
UMN	Unteres Motoneuron
USA	United States of America (Vereinigte Staaten von Amerika)
v. a.	vor allem
VAAE	vaccine-associated adverse events (unerwünschte Wirkungen in Zusammenhang mit der Impfung)
VI	Virusisolierung
VP2	virales Strukturprotein-2
W	Woche(n)
WSAVA	World Small Animal Veterinary Association
z. B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem
z. T.	zum Teil

## I. EINLEITUNG

Seit Entstehung in den 1970er Jahren zählt das canine Parvovirus (CPV) zu den wichtigsten pathogenen Viren bei Hunden weltweit. Obwohl Epidemien nur noch selten beobachtet werden, empfehlen nationale und internationale Expertengruppen für jeden Hund zu jeder Zeit einen ausreichenden Immunschutz gegen CPV (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2019). Dabei korreliert die Präsenz von Antikörpern mit einem wirksamen Schutz gegen eine Erkrankung (GREENE & DECARO, 2012; GREENE & LEVY, 2012; SYKES, 2014b). Ob die für eine solide Herdenimmunität nötige Antikörperprävalenz in der deutschen Hundepopulation erreicht wird, ist jedoch nicht bekannt.

Wenngleich die heutigen Impfstoffe als sicher gelten und schwere Nebenwirkungen selten sind, sollten Impfungen niemals unnötig verabreicht werden. Insbesondere der Effekt von Boosterimpfungen ist umstritten. So konnte eine japanische Studie zeigen, dass Wiederholungsimpfungen gegen CPV bei adulten Hunden meist nicht zum gewünschten Titeranstieg führen (TAGUCHI et al., 2012a). Dagegen ist hinreichend bekannt, dass modifizierte Lebendvakzinen (MLV) eine zeitlich begrenzte Virusausscheidung über den Kot induzieren können (CARMICHAEL et al., 1981b; VEIR et al., 2009; DECARO et al., 2014). Allerdings gibt es bisher nur wenige Daten über die tatsächliche Dauer und Menge der Virusausscheidung nach einer Impfung. Dies kann zu einem diagnostischen Dilemma führen. Auch ist nicht untersucht, wie viele Hunde CPV aufgrund von klinisch inapparenten Infektionen ausscheiden und so zu einer Umgebungskontamination beitragen.

Das erste Ziel der vorliegenden Arbeit (Publikation 1) war es daher, die Prävalenz von Antikörpern gegen CPV und die Entwicklung des Titers nach MLV-Impfung bei adulten, gesunden Hunden zu bestimmen. Weiterhin sollte geprüft werden, ob es Risikofaktoren gibt, die mit dem Fehlen von Antikörpern und einem ausbleibenden Titeranstieg assoziiert sind.

Das zweite Ziel der Arbeit (Publikation 2) war es, die Prävalenz von CPV im Kot von Hunden sowie Inzidenz, Dauer und Menge der Virusausscheidung nach der Impfung zu untersuchen. Zudem sollte bestimmt werden, ob ein Zusammenhang zwischen Virusausscheidung und einem Ansprechen auf die Impfung oder dem Auftreten gastrointestinaler Nebenwirkungen besteht.



## II. PROPHYLAXE DER CANINEN PARVOVIROSE

### 1. Antikörper gegen canine Parvoviren

Systemische Virusinfektionen werden als T-Zell-abhängige Antigene (KRETH, 2005) bei adulten Hunden hauptsächlich durch spezifische neutralisierende Antikörper primär vom Immunglobulin-G- (IgG) Isotyp und zytotoxische T-Zellen kontrolliert (FENNER et al., 1997; DODDS, 2002; DAY & SCHULTZ, 2014g; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017; PARRISH, 2017; TIZARD, 2018j). Dabei gilt bei der caninen Parvovirose der Nachweis von Serumantikörpern als zuverlässiger Indikator für eine protektive Immunität (LARSON & BRADLEY, 1996; SCHULTZ & CONKLIN, 1998b; APPEL, 1999; CARMICHAEL, 1999; COYNE et al., 2001; MOUZIN et al., 2004; PRITTIE, 2004; HORZINEK, 2006; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; HOELZER & PARRISH, 2010; GREENE & DECARO, 2012; GREENE & LEVY, 2012; DAY, 2013, 2014; SYKES, 2014b; SYKES, 2014a; PARRISH, 2017). Antikörper gegen CPV sind in der Lage, eine Infektion wirksam zu beenden und helfen, das Virus zu eliminieren (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a; CARMICHAEL et al., 1983; THOMPSON et al., 1985). Auch die Übertragung spezifischer maternaler Antikörper (maternally derived antibodies (MDA)) schützt Welpen effektiv vor einer Infektion (GOODING & ROBINSON, 1982; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982b).

Für eine exakte Messung von CPV-Antikörpern ist neben dem Serumneutralisationstest (SNT) vor allem (v. a.) der Hämagglutinationshemmtest (HAH) als Goldstandard etabliert (CARMICHAEL et al., 1980; OSTERHAUS et al., 1980b; SENDA et al., 1986; LUFF et al., 1987; RIMMELZWAAN et al., 1990; MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; TIZARD & NI, 1998; APPEL, 1999; CARMICHAEL, 1999; FRIEDRICH & TRUYEN, 2000; PRITTIE, 2004; YANG et al., 2010; GREENE & DECARO, 2012; DAY, 2014; SYKES & RANKIN, 2014; DAY et al., 2016; THOMAS et al., 2017; KILLEY et al., 2018). Während der SNT auf dem zytopathischen Effekt von Parvoviren begründet ist, wird beim HAH deren Fähigkeit genutzt, bestimmte artfremde Erythrozyten durch Rezeptoren an der Zelloberfläche zu binden und zu agglutinieren (APPEL et al., 1979a; APPEL et al., 1979b; BURTONBOY et al., 1979; GAGNON & POVEY, 1979; JOHNSON & SPRADBROW, 1979; SENDA et al., 1986; GREENE & DECARO, 2012; DAY &

SCHULTZ, 2014b; MACLACHLAN et al., 2017; NIEWIESK & OGLESBEE, 2017; PARRISH, 2017; TIZARD, 2018s). Beide Reaktionen werden in Gegenwart von Serumantikörpern durch spezifische Antigen-Antikörper-Bindung messbar gehemmt. Dabei wird die Konzentration an Antikörpern im Allgemeinen als Titer angegeben, also als Umkehrwert der höchsten Verdünnungsstufe, bei der noch eine positive immunologische Reaktion nachweisbar ist (DAY, 2014; DAY & SCHULTZ, 2014b; SYKES & RANKIN, 2014; MACLACHLAN et al., 2017). Grundsätzlich sind beide Antikörpermessverfahren erstklassig mit einer Protektion korreliert, da sie unmittelbar den biologischen Effekt der Antikörper untersuchen (BURR & SNODGRASS, 2004; BÖHM, 2009). In dieser Hinsicht sind sie anderen Nachweismethoden, wie etwa dem enzymgekoppelten Immunadsorptionstest (enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)) oder dem indirekten Immunfluoreszenztest (IFT), überlegen (BURR, 2006). Bei niedrigem Titer und neuen antigenen Varianten kann der hochsensitive und zugleich hochspezifische SNT gegenüber dem HAH im Vorteil sein (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a; POVEY et al., 1983; BURTONBOY et al., 1991; PRATELLI et al., 2001; TRUYEN, 2006; CAVALLI et al., 2008). Zudem sind CPV-Stämme ohne hämagglutinierende Eigenschaften beschrieben (PARRISH et al., 1988b; CAVALLI et al., 2001). Jedoch ist der SNT im Vergleich zum HAH technisch komplexer und erfordert neben der Produktion von infektiösem Virus auch die Vorhaltung von Zellkultureinrichtungen zur Testdurchführung, was ihn zu einem verhältnismäßig aufwendigen und teuren Nachweisverfahren macht (MACLACHLAN et al., 2017). Neben der Antikörpermessung in Referenzlaboren stehen auch verschiedene kommerzielle Schnelltests basierend auf einem ELISA-Prinzip (ImmunoComb Canine VacciCheck® Antibody Test Kit, Biogal – Galed Laboratories, Kibbutz Galed, Israel und TiterCHEK® CDV/CPV, Zoetis Inc., Kalamanzoo, Michigan, USA) oder einem „immunchromatographischen Sandwich-Prinzip“ (FASTest® CDV/CPV Ab ad us. vet., Megacor Diagnostik GmbH, Hörbranz, Österreich) zur Verfügung. Diese können unter Praxisbedingungen semiquantitativ IgG- oder Immunglobulin-M- (IgM) Antikörper gegen CPV detektieren und wurden in mehreren Studien gegen die etablierten Testmethoden, meist dem HAH (WANER et al., 1996; WILHELM et al., 2005; WANER et al., 2006; MAZAR et al., 2009; GRAY et al., 2012; LITSTER et al., 2012b; KIM et al., 2017) oder dem IFT (WANER et al., 2003; GRAY et al., 2012), validiert.



Eine Bestimmung von Antikörpern gegen CPV kann eingesetzt werden, um den Immunstatus eines einzelnen Hundes zu überprüfen. Dabei ermöglicht die Antikörperbestimmung im Einzelnen (1) die Entscheidung über die Notwendigkeit zur Auffrischungsimpfung (SMITH, 1995; MCCAWE et al., 1998; TIZARD & NI, 1998; DODDS, 1999; TWARK & DODDS, 2000; DODDS, 2001; SCHULTZ et al., 2002; MOORE & GLICKMAN, 2004; MOUZIN et al., 2004; BURR, 2006; HORZINEK, 2006; LAPPIN, 2006; SCHODER et al., 2006; WANER et al., 2006; PATEL & HELDENS, 2009; DAY, 2013, 2014; SYKES, 2014b; SYKES, 2014a; DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2017b, 2017a; KILLEY et al., 2018; VILA NOVA et al., 2018; STIKO VET AM FLI, 2019), (2) die Kontrolle einer adäquaten Immunantwort auf die Impfung, insbesondere im Anschluss an die kritische Grundimmunisierung (WANER et al., 1996; WANER, 2002; WANER et al., 2003; SCHULTZ, 2006; DAY, 2014; DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; VILA NOVA et al., 2018), sowie (3) die Bestimmung des optimalen Impfzeitpunktes von Welpen durch den Nachweis von MDA (FISCUS et al., 1985; RIMMELZWAAN et al., 1990; RIMMELZWAAN et al., 1991; SCHUNCK & TRUYEN, 1995; WANER et al., 1996; FRIEDRICH & TRUYEN, 2000; GREENE & LEVY, 2012). Weiter kann der Antikörpernachweis genutzt werden (4) beim Management von Neuaufnahmen und Krankheitsausbrüchen in Tierheimen und Auffangstationen (HURLEY, 2009; LARSON et al., 2009; GRAY et al., 2012; LITSTER et al., 2012b; DAY, 2014; PALMA et al., 2016) und (5) zur Detektion genetischer Low- oder Non-Responder (LUND et al., 2012; DAY, 2014; DAY et al., 2016; KILLEY et al., 2018; VILA NOVA et al., 2018). Die Präsenz von Antikörpern gegen CPV kann zudem Hinweis geben auf (6) eine vorangegangene aktive Immunisierung, jedoch ohne zwischen einer impfinduzierten Immunität oder einer postexpositionellen Immunität durch CPV-Feldstämme zu unterscheiden (GREENE & DECARO, 2012; GREENE & LEVY, 2012). Auch kann mithilfe von Antikörpermessungen (7) die Effektivität eines einzelnen Impfstoffs geprüft werden (SCHULTZ et al., 2002; DAY et al., 2016).

Über die minimal protektive Höhe des Antikörpertiters gegen CPV, die, wie man heute weiß, in erster Linie für passiv übertragene Antikörper, aber nicht für aktiv gebildete Antikörper nach Impfung oder Infektion wichtig ist, wird immer wieder diskutiert. Dabei stellt die Definition immunologischer Grenzwerte eine grundsätzliche Herausforderung dar (GREINER & GARDNER, 2000b; CHEN et

al., 2013). Sie wird nicht zuletzt durch Variationen zwischen den Laboren hinsichtlich Testverfahren und Ergebnisinterpretation erschwert (FORD, 2001a; GREENE & LEVY, 2012; SYKES & RANKIN, 2014). So zeigte der Vergleich von Antikörpertitern aus verschiedenen Laboren, dass die Ergebnisse durch eine fehlende Standardisierung nicht sehr aussagekräftig waren (LUFF et al., 1987). Basierend auf Infektionsversuchen in den 1980er Jahren (APPEL et al., 1979b; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a, 1982b; CARMICHAEL, 1983; CARMICHAEL et al., 1983; POLLOCK & CARMICHAEL, 1983a; POVEY et al., 1983; MEUNIER et al., 1985a; MACARTNEY et al., 1988), die sowohl an Welpen mit MDA wie auch geimpften Hunden durchgeführt wurden, wird noch heute in vielen Publikationen ein HAH-Titer größer oder gleich ( $\geq$ ) 80 als Grenzwert für eine belastbare Immunität gegen CPV gewertet (OLSON et al., 1988; MCMILLEN et al., 1995; OLSON et al., 1996; HOSKINS, 1997; MCCAW et al., 1997; MCCAW et al., 1998; MOUZIN et al., 2004; ALMENDRA et al., 2005; OTTIGER et al., 2006; SCHODER et al., 2006; WANER et al., 2006; CURI et al., 2010; LECHNER et al., 2010; GRAY et al., 2012; LITSTER et al., 2012a; LITSTER et al., 2012b; LUND et al., 2012; DIAZ et al., 2016; KIM et al., 2017; MAHON et al., 2017) (siehe auch Tabelle 4). Aufgrund der potentiellen Varianz biologischer Messverfahren und der unterschiedlichen Immunreaktion eines jeden Individuums sehen manche Autoren Titer um 80 als „Graubereich“ bei der Testung individueller Hunde an und definieren höhere Werte als Maß für eine sichere Protektion (BÖHM et al., 2004; BÖHM, 2009; TAGUCHI et al., 2011). Neuere Untersuchungen zeigten, dass bei Welpen, die MDA-Titer von 80 haben, eine Infektion mit caninem Parvovirus-2b (CPV-2b) mit milden klinischen Symptomen und Virusausscheidung möglich war. Es ist also davon auszugehen, dass die Tiere bei diesem Titer nicht ausreichend geschützt waren. Selbst bei Titern von 160 wurde noch eine Virusausscheidung beobachtet, wenngleich diese aber im Vergleich zu Welpen mit MDA-Konzentrationen unter 80 in sehr viel geringerer Menge, zeitlich verzögert und limitiert auftrat. Damit weicht dieses Ergebnis von dem früherer Untersuchungen ab, was zum Beispiel (z. B.) durch eine engere Adaptation neuerer CPV-Varianten an den caninen Wirt erklärbar ist (DECARO et al., 2005a; ELIA et al., 2005). Grundsätzlich sollte bei der Definition protektiver Titer auf Basis von Infektionsexperimenten bedacht werden, dass hierbei häufig sehr viel höhere Virusmengen eingesetzt werden, als sie normalerweise unter Feldbedingungen erreicht werden. So könnten einige Hunde, die trotz Vorhandenseins spezifischer

Antikörper nach einer experimentellen Infektion erkranken, dennoch eine ausreichende Immunität besitzen, um einer Erkrankung infolge einer natürlichen Infektion zu widerstehen. Zudem wird in Challengeexperimenten meist eine limitierte Zahl an Hunden spezieller Rassen eingesetzt, sodass von einer begrenzten Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Hundepopulation im Gesamten auszugehen ist (LITSTER et al., 2012a). All dies macht es schwierig, den Begriff des „protektiven“ Titers als absolute Größe zu werten (SCHODER et al., 2006). Heute gilt als erwiesen, dass trotz Vorhandenseins von Antikörpern im Serum eine lokale Infektion des Darms und des assoziierten lymphatischen Gewebes mit inapparenter oder subklinischer Virusausscheidung möglich ist (EUGSTER, 1980; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a; PRITTIE, 2004; GREENE & DECARO, 2012).

Angaben von protektiven Grenzwerten sind in erster Linie für MDA und andere passiv übertragene Antikörper gegen CPV relevant. Bei erwachsenen Hunden mit aktiver Immunität geht man zunehmend davon aus, dass jeglicher Nachweis von Antikörpern mit einem Schutz vor klinischer Erkrankung assoziiert ist (SCHULTZ & CONKLIN, 1998b; SCHULTZ, 2006; SCHULTZ et al., 2010; GREENE & DECARO, 2012; GREENE & LEVY, 2012; DAY, 2013; DAY et al., 2016). Die Präsenz von Antikörpern gegen CPV gilt als Indikator, dass langlebige Plasmazellen vorhanden und funktional sind und Gedächtniszellen die schützenden Immunmechanismen im Falle eines erneuten Antigenkontaktes schnell wieder aufbauen können (RIMMELZWAAN & OSTERHAUS, 1997; SCHULTZ, 1998; SCHULTZ & CONKLIN, 1998a, 1998b; SAALMÜLLER, 2006; SCHULTZ, 2006; DAY & SCHULTZ, 2014c, 2014d; STIKO VET AM FLI, 2017a; TIZARD, 2018c). Selbst wenn aktiv gebildete Antikörper auf sehr niedrige Konzentrationen oder gar unter die Nachweisgrenze abgefallen sind, kann eine sekundäre anamnestic Immunantwort ausreichen, um eine klinische Erkrankung zu verhindern (TIZARD & NI, 1998; SCHODER et al., 2006; WANER et al., 2006; KILLEY et al., 2018). So entwickelt sich während einer frischen Immunreaktion infolge einer Infektion oder Impfung immer ein kleiner Teil der aktivierten Lymphozyten zu verschiedenen Klassen von Gedächtniszellen, die eine langlebige Reserve antigensensitiver Zellen bilden. Diese Zellen können im Falle eines erneuten Erregerkontaktes im Vergleich zu naiven Lymphozyten schneller und einfacher stimuliert werden (KRETH, 2005). Wenngleich der Mechanismus ihrer Entstehung in den Keimzentren von Lymphknoten nicht in allen Einzelheiten

bekannt ist (TIZARD, 2018c), gilt als erwiesen, dass B-Gedächtniszellen zum Teil (z. T.) sogar unabhängig von einem Antigenkontakt als ruhende Zellpopulation über Jahre persistieren können (MARUYAMA et al., 2000; OCHSENBEIN et al., 2000). Bei erneutem Antigenkontakt können aus ihnen durch klonale Expansion etwa acht- bis zehnmal so viele Plasmazellen hervorgehen wie bei einer primären Immunantwort (TIZARD, 2018c). Infolgedessen kommt es zu einer schnelleren und höheren Antikörpersekretion mit einer Prädominanz des IgG-Isotyps auf langanhaltend hohem Niveau (DAY & SCHULTZ, 2014d; TIZARD, 2018c). Andere Populationen selbsterneuernder, sich langsam teilender B-Gedächtniszellen benötigen vermutlich eine kontinuierliche oder zumindest periodische antigene Stimulation ihrer B-Zell-Rezeptoren, z. B. aus Reservoirs von Antigen-Antikörper-Komplexen, die auf den Zellmembranen follikulärer dendritischer Zellen gespeichert sind, oder auch durch Exposition zu kreuzreaktiven Epitopen oder Feldvirus in der Umwelt oder durch Wiederholungsimpfungen (DAY & SCHULTZ, 2014d; TIZARD, 2018c). Aus dieser Zellpopulation gehen wahrscheinlich auch die langlebigen Plasmazellen (z. T. bezeichnet als „memory effector B cells“ (SCHULTZ, 2006)) hervor, die bevorzugt im Knochenmark akkumulieren und über Jahre ohne offensichtliche weitere Stimulation als ausdifferenzierte Effektorzellen geringe Konzentrationen an Antikörpern produzieren und so einen konstanten, niedrigen Titer aufrechterhalten (TIZARD, 2018c). In humanmedizinischen Studien wurde vielfach keine Korrelation zwischen der Zahl zirkulierender B-Gedächtniszellen und den korrespondierenden Antikörpertitern gefunden. Dies lässt die Vermutung zu, dass B-Gedächtniszellen und antikörperproduzierende Plasmazellen unabhängig regulierte Zellpopulationen darstellen, die bei der Aufrechterhaltung der protektiven Immunität eine eigenständige Rolle spielen (AMANNA et al., 2007). In Zusammenhang mit Boosterimpfungen konnte eine signifikante Korrelation zwischen der Anzahl an Wiederholungsimpfungen und der Höhe der antigenspezifischen B-Zell-Expansion nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu korrelierte der Effekt der Boosterimpfungen aber nicht entsprechend mit den spezifischen Antikörpertitern (NANAN et al., 2001). Bei Hunden wird die Messung von antigenspezifischen B-Gedächtniszellen derzeit als nur wenig praktikabel angesehen (MAHON et al., 2017).

Wenngleich bei CPV die humorale Immunität gut erforscht und mit einem

belastbaren Schutz korreliert ist (EUGSTER, 1980; MEUNIER et al., 1981; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a), muss eine Immunität nicht zwangsläufig auf der Präsenz von Antikörpern beruhen (SCHULTZ, 1995a, 1995b; ABDELMAGID et al., 2004; BURR, 2006; SAALMÜLLER, 2006; BÖHM, 2009; TAGUCHI et al., 2011; GREENE & LEVY, 2012; KILLEY et al., 2018). Ein adäquater Schutz kann auch über eine effektive zelluläre Immunität vermittelt werden. Zur Messung der zellulären Immunität kommen neben dem Lymphozyten-Transformationstest auch die Messung des Leukozytentracking und des numerischen Verhältnisses zwischen cluster-of-differentiation- (CD) 4-positiven T-Helferzellen und CD8-positiven zytotoxischen T-Zellen (CD4/CD8-Ratio) in Frage (MARTINOD, 1997). Allerdings fehlen oftmals geeignete Marker zur Differenzierung von Leukozytenantigenen und Zytokinen, sodass bislang nur ein begrenzter Einblick in den antigenspezifischen zellmedierten Immunschutz von Hunden gelingt (SAALMÜLLER, 2006). Daher wird die Testung auf zelluläre Immunität nicht routinemäßig durchgeführt (BÖHM, 2009; KILLEY et al., 2018), ebenso wenig wie eine standardmäßige Überprüfung der tatsächlichen Protektion durch Infektionsexperimente, welche insbesondere bei Hunden in Privatbesitz nicht zu vertreten sind (TAGUCHI et al., 2011). Die Bestimmung von Antikörpern bleibt somit bis auf Weiteres das einzige zuverlässige praktische Kriterium, um einen Schutz im Feld aufzuzeigen (FRIEDRICH & TRUYEN, 2000; MOUZIN et al., 2004; SCHODER et al., 2006; TAGUCHI et al., 2011; MAHON et al., 2017). Können bei einem aktiv immunisierten Hund keine Antikörper gegen CPV nachgewiesen werden, ist davon auszugehen, dass das Tier ungenügend geschützt und eine Impfung indiziert ist (SCHULTZ, 1998; ABDELMAGID et al., 2004; SCHULTZ, 2006; WANER et al., 2006; DAY et al., 2016; KILLEY et al., 2018).

### **1.1. Entstehung von Antikörpern**

Antikörper bilden als eine Art lösliche Antigenrezeptoren in den verschiedenen Körperflüssigkeiten die Grundbausteine der humoralen Immunantwort (FENNER et al., 1997; DODDS, 2002; DAY & SCHULTZ, 2014a; TIZARD, 2018d). Sie können entweder passiv von der Mutter auf die noch immuninkompetenten Neugeborenen übertragen werden (RIMMELZWAAN & OSTERHAUS, 1997; DAY & SCHULTZ, 2014k; TIZARD, 2018g) oder aktiv nach Stimulation der B-Zellen durch Antigenexposition bei einer natürlichen Infektion oder Impfung induziert werden (RIMMELZWAAN & OSTERHAUS, 1997; DAY & SCHULTZ,

2014d; TIZARD, 2018c).

### **1.1.1. Maternale Antikörper**

Der Effekt des passiven maternalen Immunschutzes wurde erstmals im späten 18. Jahrhundert durch Geert Reinders (1737–1815), einem dänischen Farmer, nachgewiesen; er hatte beobachtet, dass Kälber von den wenigen Müttern, die die Rinderpest überlebt hatten, gegen weitere Infektionen resistent waren (PASTORET, 2006; PASTORET et al., 2006; PASTORET, 2007). Auch Hundewelpen werden in ihren ersten Lebenswochen durch eine natürliche passive Immunität in Form von spezifischen Antikörpern gegen CPV, die direkt von der Mutter übertragen werden, geschützt (APPEL et al., 1980b; SMITH et al., 1980a; PRITTIE, 2004; DAY, 2007a; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; HOELZER & PARRISH, 2010; GREENE & DECARO, 2012; DAVIS-WURZLER, 2014; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017; PARRISH, 2017). Diese Antikörper sind in der Lage, CPV zu sequestrieren, noch bevor es zu einer Virämie und Kolonisation des Darmepithels kommt (MACARTNEY et al., 1988; DECARO et al., 2005a). Während Antikörper vom Immunglobulin-A- (IgA) Isotyp für den lokalen mukosalen Schutz gegen CPV hilfreich sind, ist für die systemische Immunität der Welpen die Aufnahme von Antikörpern vom IgG-Isotyp essentiell (RIMMELZWAAN & OSTERHAUS, 1997; CHASTANT-MAILLARD et al., 2016; CHASTANT-MAILLARD & MILA, 2016).

Durch den endotheliochorialen Aufbau der Plazenta werden Welpen mit einem Serum-IgG-Gehalt von etwa 0,3 Gramm (g)/Liter (l) nahezu agammaglobulinämisch geboren (POFFENBARGER et al., 1991; BOUCHARD et al., 1992; DAY & SCHULTZ, 2014k). Im Gegensatz zu Menschen und Primaten (NIEWIESK, 2014; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017), wird bei Hunden nur ein kleiner Teil der Antikörper, etwa 5 bis maximal 10 Prozent (%), bereits vor der Geburt auf die Feten übertragen (WINTERS, 1981; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982b; STOFFEL et al., 2000; DAY, 2007a; GREENE & LEVY, 2012; DAY & SCHULTZ, 2014k; PARRISH, 2017; TIZARD, 2018g). So nehmen Welpen MDA fast ausschließlich mit dem IgG-reichen Kolostrum (HEDDLE & ROWLEY, 1975; MEUNIER et al., 1981; POFFENBARGER et al., 1991; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; CHASTANT-MAILLARD et al., 2012; MILA et al., 2015; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017; CHASTANT-MAILLARD et al., 2017; PARRISH, 2017) und in geringerem Umfang auch mit der späteren Milch

(WINTERS, 1981; DECARO et al., 2004; MILA et al., 2014b) auf. Der gesamte Prozess wird dementsprechend auch als „laktogene Immunisierung“ (POVEY & CARMAN, 1997d; DECARO et al., 2004) bezeichnet. Für die Resorption der Antikörper aus dem Dünndarm sind zwei Mechanismen von Bedeutung: (1) der unspezifische Übertritt zwischen den nur lose verbundenen Enterozyten und (2) die spezifische rezeptorvermittelte Pinozytose über die Darmschleimhaut (DAY & SCHULTZ, 2014k; CHASTANT-MAILLARD et al., 2017; TIZARD, 2018g). Durch den hohen Antitrypsingehalt im Kolostrum, der etwa 1000-fach höher ist als in der späteren Milch (CHASTANT-MAILLARD et al., 2016), werden die Immunglobuline vor der Verdauung geschützt (DAY & SCHULTZ, 2014k; TIZARD, 2018g). Daneben enthält das Kolostrum auch viele Immunzellen, immunmodulatorische Substanzen, Wachstumsfaktoren und bioaktive Komponenten, die die Entwicklung der Darmschleimhaut beeinflussen, sowie Bakterien, die den neonatalen Gastrointestinaltrakt besiedeln (WHITE et al., 1996; WHEELER et al., 2007). Diesem Prozess wird zunehmend Bedeutung für die Entwicklung eines normalen Immunsystems beigemessen (BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017).

Während lange Zeit davon ausgegangen wurde, dass MDA innerhalb der ersten 24 Lebensstunden absorbiert werden können (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982b), zeigen neuere Studien, dass die Permeabilität der Darmbarriere bei Welpen bereits nach vier bis acht Stunden deutlich abnimmt, und zwölf bis 16 Stunden nach der Geburt keine Antikörper mehr aus dem Kolostrum aufgenommen werden können (CHASTANT-MAILLARD et al., 2012). Dies gilt auch für die Katze (CASAL et al., 1996). Hormone (Kortisol, Insulin) und Wachstumsfaktoren aus dem Kolostrum beschleunigen den Verschluss der Darmschranke und verhindern damit den Eintrag von Pathogenen in den Blutkreislauf neugeborener Welpen, was zugleich aber auch eine weitere Resorption von MDA beendet (CHASTANT-MAILLARD et al., 2016). Innerhalb von zwölf bis 48 Stunden nach dem Säugen werden bei Welpen die höchsten Serum-IgG-Konzentrationen gemessen (CHASTANT-MAILLARD et al., 2012; DAY & SCHULTZ, 2014k; CHASTANT-MAILLARD et al., 2017). Dabei werden etwa 50 bis 75 % des Serumantikörperspiegels der Mutter erreicht (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982b; WANER, 2002; PRITTIE, 2004; GREENE & LEVY, 2012). Allerdings korreliert der Serumtiter der Mutter nur bedingt mit dem der Welpen (FRIEDRICH & TRUYEN, 2000). Entscheidend für

die neonatale Überlebensrate (von der Geburt bis zum 21. Tag) ist ein Serum-IgG-Gehalt von 2,3 g/l, welcher am zweiten Tag erreicht sein sollte (MILA et al., 2014a). In den anschließenden Wochen fällt der MDA-Titer der Welpen exponentiell ab (DECARO et al., 2004; GODDARD & LEISEWITZ, 2010), wobei die durchschnittliche Halbwertszeit der maternalen Antikörper gegen CPV in verschiedenen Studien zwischen 8,3 Tagen (PARRISH et al., 1982b), 9,7 Tagen (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982b; GREENE & LEVY, 2012), 11,6 Tagen (WANER et al., 1996), bis zu 13,4 Tagen (MILA et al., 2014a) oder 13,5 Tagen (IIDA et al., 1990) angegeben wird. Somit ist von einer Schutzwirkung über einen Zeitraum von etwa zehn bis 14 Wochen auszugehen (GREENE & LEVY, 2012). Bei hohem Infektionsdruck kann sich die Kinetik der MDA verändern. In experimentellen Belastungsversuchen mit virulentem CPV wurde ein schnellerer Abfall der zirkulierenden systemischen Antikörper nachgewiesen, was einer Sequestration von MDA durch das Virus zugeschrieben wurde (MACARTNEY et al., 1988; DECARO et al., 2005a). Dieser Effekt konnte jedoch in einer späteren Studie mit natürlicher hoher Umgebungsbelastung nicht bestätigt werden (MILA et al., 2014b).

Bei etwa 18 % der Welpen ist von einer ungenügenden Immunglobulinaufnahme auszugehen (MILA et al., 2014a). Dabei kann der laktogene MDA-Transfer durch zahlreiche Faktoren, sowohl seitens der Mutter (wie etwa Alter, Verhalten, Anatomie der Zitzen, Menge und Qualität des Kolostrums) als auch seitens der Welpen (wie etwa Wurfgröße, Geburtsgewicht, Vitalität, Menge und Zeitpunkt der Kolostrumaufnahme sowie intestinale Absorption), beeinflusst werden (DAY & SCHULTZ, 2014k; MILA et al., 2014a; TIZARD, 2018g). Bereits einige Stunden nach der Geburt fällt der Gehalt an spezifischen Antikörpern in der Milch rapide ab, um circa (ca.) 50 % innerhalb von 24 Stunden (WINTERS, 1981; DECARO et al., 2004; CLAUS et al., 2006). Dementsprechend unterscheiden sich Milch und Kolostrum sehr deutlich in ihrem IgG-Gehalt (ca. 1 g/l versus durchschnittlich 20 bis 30 g/l) (REYNOLDS & JOHNSON, 1970; BOUCHARD et al., 1992; SCHÄFER-SOMI et al., 2005; CHASTANT-MAILLARD et al., 2010; CHASTANT-MAILLARD et al., 2016; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017; CHASTANT-MAILLARD et al., 2017) und in der Zusammensetzung der Immunglobulinklassen (SCHÄFER-SOMI et al., 2005; CHASTANT-MAILLARD et al., 2010). Während Kolostrum sehr reich an IgG und IgA ist (ca. 55 %



beziehungsweise (bzw.) 40 %), enthält die spätere Milch von Hündinnen deutlich mehr IgA als IgG (ca. 90 % bzw. 5 %). IgM ist jeweils zu einem kleinen Teil enthalten; Immunglobulin-E (IgE) hingegen ist nicht nachweisbar (HEDDLE & ROWLEY, 1975; SCHÄFER-SOMI et al., 2005) (siehe auch Tabelle 1).

**Tabelle 1: Immunglobuline in der Milch und im Kolostrum von Hunden (in Anlehnung an SCHÄFER-SOMI et al., 2005)**

Die Messung wurde an sechs Hündinnen mit einem kommerziellen hundespezifischen ELISA durchgeführt (Dog IgA-, IgG- and IgM-Quantitation Kits, Bethyl Lab., Inc., Montgomery, TX, USA mit einer Sensitivität von 15,6–500 Nanogramm (ng)/Milliliter (ml) für IgG, 62,5–1.000 ng/ml für IgA und 31–1.000 ng/ml für IgM).

Immunglobuline in caninem Kolostrum und Milch					
	IgG in mg/ml MW $\pm$ SD	IgA in mg/ml MW $\pm$ SD	IgM in mg/ml MW $\pm$ SD	TP in mg/ml MW $\pm$ SD	Alb in mg/ml MW $\pm$ SD
<b>Frühes Kolostrum</b> (24 Stunden p. p.)	19,3 $\pm$ 20,9 (64,8 %)	9,9 $\pm$ 4,3 (33,2 %)	0,6 $\pm$ 0,2 (2,0 %)	80,7 $\pm$ 31,8	20,5 $\pm$ 0,7
<b>Spätes Kolostrum</b> (48 Stunden p. p.)	13,5 $\pm$ 9,4 (68,2 %)	6,0 $\pm$ 1,7 (30,3 %)	0,3 $\pm$ 0,3 (1,5 %)	70,3 $\pm$ 11,2	18,3 $\pm$ 2,4
<b>Frühe Milch</b> (1 Woche p. p.)	2,0 $\pm$ 2,5 (35,1 %)	3,3 $\pm$ 1,7 (57,9 %)	0,4 $\pm$ 0,2 (7,0 %)	41,5 $\pm$ 3,5	16,0 $\pm$ 5,7
<b>Späte Milch</b> (6 Wochen p. p.)	1,0 $\pm$ 1,4 (11,5 %)	6,6 $\pm$ 3,1 (75,8 %)	1,1 $\pm$ 1,1 (12,6 %)	61,8 $\pm$ 4,3	17,0 $\pm$ 5,6

%; Prozent, Alb: Albumin, IgA: Immunglobulin-A, IgG: Immunglobulin-G, IgM: Immunglobulin-M, mg: Milligramm, ml: Milliliter, MW: Mittelwert, p. p.: post partum, SD: standard deviation (Standardabweichung), TP: Totalprotein.

Neben dem Zeitpunkt der Aufnahme ist für den passiven Immunschutz v. a. die immunologische Qualität des Kolostrums entscheidend (POVEY & CARMAN, 1997d). Diese ist beim Hund sehr variabel, sodass im caninen Kolostrum IgG-Konzentrationen zwischen 3 bis 70 g/l gemessen werden (MILA et al., 2015; CHASTANT-MAILLARD et al., 2016; CHASTANT-MAILLARD et al., 2017). Hohe Serumantikörper gegen CPV sind v. a. bei Hündinnen nach einer überstandenen Erkrankung oder in Umgebungen mit hohem Infektionsdruck zu erwarten. Eine spezifische Anreicherung kann auch durch eine Impfung in kurzem zeitlichem Abstand zur Läufigkeit (also noch vor der Zucht), unmittelbar vor der Konzeption, und/oder im fortgeschrittenen Stadium der Trächtigkeit (in der zweiten Hälfte oder im letzten Trimester) erzielt werden (GREENE & LEVY, 2012; CHASTANT-MAILLARD et al., 2017). Auch eine Boosterimpfung trächtiger Hündinnen etwa vier Wochen vor der Geburt ist beschrieben. Dabei dürfen

trächtige Hündinnen ausschließlich mit Vakzinen aus inaktiviertem Virus geimpft werden, um den potentiell pathogenen Einfluss replikationsfähiger Impfstämme auf die Feten zu vermeiden (LEWIS et al., 1988; POVEY & CARMAN, 1997d; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017). Im Allgemeinen wird eine Impfung trächtiger Hündinnen jedoch nicht empfohlen (GREENE & LEVY, 2012). Unter dem Einfluss von Östrogen und Progesteron werden Antikörper aus dem Serum in den letzten Wochen der Trächtigkeit durch neonatale Immunglobulinrezeptoren in der Milchdrüse eingefangen und aktiv ins Kolostrum transportiert (BOURNE & CURTIS, 1973; CHASTANT-MAILLARD et al., 2017; TIZARD, 2018g). So ist der IgG-Gehalt im Kolostrum zum Zeitpunkt der Geburt durchschnittlich etwa 2,8-fach höher als im Serum (MILA et al., 2015). Wenngleich große Variationen zwischen einzelnen Hündinnen möglich sind (0,9- bis 8,3-fach), unterscheidet sich diese Kennzahl deutlich von der anderer Tierarten, wie der Katze (4,1-fach, (CLAUS et al., 2006)), dem Schwein (5,4-fach (FOISNET et al., 2010)) oder der Kuh (28,7-fach (MORIN et al., 1997)). Der IgG-Gehalt des caninen Kolostrums ist nicht direkt mit der Serum-IgG-Konzentration der Hündin assoziiert (CHASTANT-MAILLARD et al., 2012; MILA et al., 2015; CHASTANT-MAILLARD et al., 2016). Dies ist überraschend, da kolostrales IgG direkt aus dem maternalen Blut stammt und nur zu einem kleinen Teil lokal in der Milchdrüse gebildet wird (STOFFEL et al., 2000; CHASTANT-MAILLARD et al., 2017). Allerdings kommt es unter dem Einfluss von Hormonen zu einer selektiven Konzentration, bei der Immunglobuline bis zur Freisetzung nach der Geburt in den Milchdrüsenalveolen gespeichert werden. Im Unterschied zu IgG scheinen kolostrales IgA und IgM größtenteils lokal in der Milchdrüse gebildet zu werden (HURLEY & THEIL, 2011). Das Alter der Hündin, die Größe der Rasse und die Anzahl der Welpen hatten in Untersuchungen keinen signifikanten Einfluss auf den IgG-Gehalt des Kolostrums (CHASTANT-MAILLARD et al., 2016). Jedoch konnten signifikante Unterschiede im IgG-Gehalt des Kolostrums aus verschiedenen Gesäugekomplexen gemessen werden (mit einem Variationskoeffizienten von 42 %), wobei die Position des Gesäugekomplexes mit dem immunologisch hochwertigsten Kolostrum bei verschiedenen Hündinnen variabel war (MILA et al., 2015). Darüber hinaus ist auch die IgG-Konzentration im Serum der Welpen nicht zwingend mit der im Kolostrum korreliert (MILA et al., 2014a). Eine signifikante Assoziation konnte aber zwischen dem Serum-IgG-Gehalt der Welpen und deren Wachstumsrate in den ersten 48 Lebensstunden nachgewiesen werden; 40 % der

Welpen, die in den ersten zwei Lebenstagen an Gewicht verloren, hatten einen defizitären MDA-Transfer, im Gegensatz zu nur 1 % der Welpen, die an Gewicht zulegten (MILA et al., 2014a; MILA et al., 2014b). Dies ist durch den zugleich immunisierenden wie kalorischen Effekt des Kolostrums zu erklären, das neben Immunglobulinen auch viele Hormone, Wachstumsfaktoren und Nährstoffe enthält (CHASTANT-MAILLARD et al., 2016; MILA et al., 2016c). Als Konsequenz wird geraten Welpen regelmäßig zu wiegen, um so Rückschluss auf eine adäquate Kolostrumaufnahme und damit indirekt auf einen adäquaten Immunglobulintransfer zu erhalten (MILA et al., 2014a; MILA et al., 2014b). Um die für einen adäquaten passiven Immunschutz gewünschte Serumkonzentration von 2,3 g IgG/l zu erreichen, muss ein Welpen etwa 1,3 ml Kolostrum/100 g Körpergewicht (KGW) aufnehmen (bei einer geschätzten Absorptionsrate von 40 %, einem Hämatokrit von 35 % und einer kolostralen IgG-Konzentration von 20 g/l). Das ist sehr viel niedriger, als zur Deckung des Energiebedarfs erforderlich ist (CHASTANT-MAILLARD & MILA, 2016). Generell wird postuliert, dass sich bei multiparen Tieren die Höhe des passiven Immunglobulintransfers über das Kolostrum indirekt proportional zur Größe des Wurfs verhält (GREENE & LEVY, 2012). Studien, die die MDA-Titer von Wurfgeschwistern untersuchten, zeigten allerdings keine eindeutigen Ergebnisse. So fanden FRIEDRICH und TRUYEN bei 58 Würfen verschiedener Hunderassen sehr ähnliche Titer bei Welpen des gleichen Wurfs (FRIEDRICH & TRUYEN, 2000) und prägten daher den Begriff des „fraternalen“ Antikörpertiters. Dagegen konnten andere Untersuchungen deutliche Abweichungen zwischen Wurfgeschwistern, sowohl bei Hunden (WINTERS, 1981; POULET, 2007; MILA et al., 2014b) wie auch bei Katzen (POULET, 2007), feststellen, was als direkte Folge der vielen Variablen bei der Kolostrumaufnahme gewertet wird (PASTORET, 2007; DAY & SCHULTZ, 2014k; CHASTANT-MAILLARD et al., 2017).

Je höher der ursprüngliche MDA-Titer, desto länger ist ein Welpen vor pathogenen CPV-Feldstämmen geschützt; allerdings interferieren MDA auch mit einer aktiven Immunisierung durch eine Impfung (POVEY & CARMAN, 1997d; WANER, 2002; DAY & SCHULTZ, 2014k; TIZARD, 2018g). Daher wird die Übertragung von MDA von manchen Autoren auch als „zweischneidiges Schwert“ bezeichnet (DAY, 2007a). Die Interferenz mit MDA ist bereits seit den 1980er Jahren als hauptursächlich für ein Versagen der Impfung gegen CPV bei jungen Hunden

bekannt (APPEL et al., 1980a; POLLOCK & CARMICHAEL, 1983b; CARMICHAEL et al., 1984; O'BRIEN et al., 1986; MACARTNEY et al., 1988; RIMMELZWAAN & OSTERHAUS, 1997). Über die exakte Höhe des MDA-Titers, bei dem eine Protektion nicht mehr gewährleistet ist, zugleich aber eine aktive Immunantwort auf die Impfung noch blockiert wird, finden sich in der Literatur verschiedene Angaben (siehe auch 2.3.2.2.4.). Obwohl die Vermutung naheliegt, dass der Einfluss von MDA v. a. Impfstoffe mit replikationsfähigem attenuierten CPV betrifft, konnte in neueren Untersuchungen an anderen Tierarten gezeigt werden, dass auch die Immunantwort auf moderne Vektorimpfstoffe, z. B. gegen aviäre Influenza (FAULKNER et al., 2013), oder adjuvante Impfstoffe aus inaktiviertem Virus, z. B. gegen Blauzungenkrankheit (VITOUR et al., 2011), durch MDA negativ beeinflusst wird.

Zugrundeliegend wird eine MDA-vermittelte negative Feedback-Regulation vermutet, durch die die Eigensynthese von Immunglobulinen durch das Neugeborene gehemmt wird, die T-Zell-Antwort jedoch weitgehend unberührt bleibt (SIEGRIST et al., 1998; SIEGRIST, 2001, 2003; KIM et al., 2011; NIEWIESK, 2014; TIZARD, 2018g). Es gibt verschiedene Hypothesen, wie es zu dieser selektiven Suppression kommt (SIEGRIST, 2003; HODGINS & SHEWEN, 2012). Die Neutralisation von Impfantigen, wodurch eine Replikation des lebenden Impfvirus verhindert wird und B-Zellen nur ungenügend geprimt werden, galt lange Zeit als wichtigste Erklärung. Dabei scheint anhand der aktuellen Datenlage die Menge an Antigen für ein erfolgreiches T-Zell-Priming aber trotzdem auszureichen (TIZARD, 2018g). Weiter gegen die These spricht, dass auch Totimpfstoffe und Vektorimpfstoffe, die nicht auf eine Replikation angewiesen und somit unempfindlich gegen neutralisierende Antikörper sind, ebenso von der Interferenz mit MDA betroffen sind (NIEWIESK, 2014). Als anderer Mechanismus wird eine Querverbindung des B-Zellrezeptors (der das Impfantigen erkennt) mit dem regulatorischen Fc $\gamma$ -Rezeptor-IIb (der spezifisch die Fc-Region des IgG-Antikörpers erkennt) auf der Oberfläche der B-Zellen diskutiert. Durch diese komplexe Querverbindung zwischen Impfantigen und IgG-Antikörpern könnte sowohl die Proliferation der B-Zellen als auch die Sekretion von Antikörpern gehemmt werden (KIM et al., 2011). Eine Fc-Rezeptor-vermittelte Phagozytose von Antigen-Antikörper-Komplexen könnte diesen Prozess unterstützen (NIEWIESK, 2014). Allerdings wurde an Knock-out-Mäusen gezeigt, dass MDA

trotz ausgeschalteter Fc-Rezeptoren in der Lage sind, die Antikörperproduktion wirksam zu inhibieren (TIZARD, 2018g). Die letzte Hypothese, die Maskierung der B-Zell-Epitope auf Impfantigenen (TIZARD, 2018g), gilt derzeit als vielversprechendste Erklärung (SIEGRIST, 2003). Dabei verhindern MDA die Erkennung spezifischer Determinanten; Immunkomplexe aus MDA und Impfantigen werden durch dendritische Zellen und andere antigenpräsentierende Zellen aufgenommen, die diese Determinanten CD4- und CD8-positiven T-Zellen präsentieren, wodurch die T-Zellantwort gewahrt und bisweilen sogar gesteigert wird (SIEGRIST, 2007a). Der Mechanismus wurde v. a. bei der Feedback-Regulation passiv übertragenen Antikörper untersucht. So zeigten verschiedene Studien, dass ein monoklonaler Antikörper gegen ein spezifisches Epitop die Erkennung eines kompletten Antigens durch die B-Zellen unterdrücken kann (NIEWIESK, 2014). Allerdings gibt es unterschiedliche Meinungen zur Relevanz dieser Hemmung bei MDA. Für die These spricht, dass spezifisch die B-Zell-Antwort inhibiert wird, die T-Zell-Antwort aber unbeeinträchtigt bleibt, und hohe Dosen von Impfantigen die maternale Immunität durchbrechen und eine aktive Immunantwort induzieren können (TIZARD, 2018g). Trotzdem äußern manche Autoren auf Grundlage experimenteller Forschung Bedenken (KIM et al., 2011). Ungeachtet der komplexen Rückkopplungsmechanismen wird die funktionelle Inaktivierung von Impfantigenen angesichts hoher MDA-Konzentrationen als Schlüsselmechanismus angesehen, durch den eine effektive Immunantwort bei Welpen verhindert wird (POULET, 2007; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017). Zusätzlich kann die Effektivität einer Impfung in der neonatalen Phase durch weitere Einflussgrößen, wie ein noch nicht vollständig ausgereiftes Immunsystem, eine stärkere immunologische Ausrichtung zugunsten einer Th-2-Immunantwort und eine suboptimale Interaktion von T-Zellen und antigenpräsentierenden Zellen, beeinträchtigt sein (SIEGRIST, 2001; MOREIN et al., 2002; MOREIN et al., 2007; SIEGRIST, 2007a).

Um die Interferenz von MDA mit der aktiven Immunisierung zu reduzieren, werden verschiedene Strategien empfohlen (POVEY & CARMAN, 1997d; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; GREENE & DECARO, 2012; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017; PARRISH, 2017), so etwa die Verwendung hochtitriger und/oder niedrigpassagierter MLV (BURTONBOY et al., 1991; BUONAVOGLIA et al., 1992; O'BRIEN, 1994; LARSON & SCHULTZ, 1996b; HOARE et al., 1997;

HOSKINS, 1997; LARSON & SCHULTZ, 1997; DE CRAMER et al., 2011; GREENE & LEVY, 2012; DAY et al., 2016; PARRISH, 2017) oder eine mukosale intranasale Impfstoffapplikation (BUONAVOGLIA et al., 1994; BUONAVOGLIA et al., 1995; POVEY & CARMAN, 1997d, 1997c; MARTELLA et al., 2005). Möglicherweise können auch CPV-2b-Impfstoffe die maternale Immunität effektiver durchbrechen als Vakzinen auf Basis des ursprünglichen caninen Parvovirus-2 (CPV-2) (PRATELLI et al., 2000; PRATELLI et al., 2001; MARTELLA et al., 2005; BÖHM, 2009). Modernere Impfstofftypen, wie Subunit-Vakzinen (RIMMELZWAAN & OSTERHAUS, 1997), synthetische Peptid-Vakzinen (LANGEVELD et al., 1994a; LANGEVELD et al., 1994b; MELOEN, 1997; POVEY & CARMAN, 1997d) oder Desoxyribonukleinsäure-(deoxyribonucleic acid (DNA)) Vakzinen (COLPAN et al., 1997; TARPEY & GREENWOOD, 2001), könnten eine erfolgversprechende Strategie für die Zukunft darstellen. Weiterhin ist es möglich, den optimalen Impfzeitpunkt der Welpen über den Muttertiertiter um den Geburtszeitraum (CARMICHAEL et al., 1983; GREENE & LEVY, 2012; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017; STIKO VET AM FLI, 2017a) oder den „fraternalen“ Titer zweier zufällig ausgewählter Wurfgeschwister abzuschätzen (FRIEDRICH & TRUYEN, 2000; STIKO VET AM FLI, 2017a). Wiederholte Antikörpermessungen bei individuellen Welpen sind meist nicht praktikabel und zudem kostspielig (GREENE & LEVY, 2012). Als wichtigste praktische Maßnahme gilt daher die Empfehlung zur Verlängerung der Grundimmunisierung bis zur mindestens 16. Lebenswoche und eine abschließende erste Wiederholungsimpfung (DAY & SCHULTZ, 2014k), die je nach Impfleitlinie im Alter von sechs bis zwölf Monaten (DAY et al., 2016) oder ein Jahr nach der letzten Welpenimpfung (FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2019) erfolgen sollte. Eine weitere Möglichkeit, den Erfolg der Grundimmunisierung zu kontrollieren, ist eine Antikörpertiterbestimmung ab der 20. Lebenswoche (drei bis vier Wochen nach der letzten Welpenimpfung) (DAY & SCHULTZ, 2014k; DAY et al., 2016; STIKO VET AM FLI, 2017a). Von einer Isolation der Welpen bis zur 16. Lebenswoche wird aufgrund möglicher späterer Verhaltensprobleme durch eine ungenügende Frühsozialisierung abgeraten (DUXBURY et al., 2003; AMERICAN VETERINARY SOCIETY OF ANIMAL BEHAVIOR (AVSAB), 2008; KORBELIK et al., 2011). Auch konnte in einer amerikanischen Studie an geimpften Welpen, die eine Sozialisierungsklasse besuchten, im Vergleich zu geimpften Welpen, die diese Klassen nicht besuchten, kein erhöhtes Risiko für eine

CPV-Infektion festgestellt werden (STEPITA et al., 2013). Allerdings sollten Welpen bis zum Abschluss der Grundimmunisierung von Umgebungen mit sehr hohem Infektionsdruck, wie Parks, Hundeausstellungen oder Tierpensionen, ferngehalten werden; auch die Wartebereiche von Tierkliniken oder Tierarztpraxen sind in diesem Zusammenhang potentiell kritisch zu bewerten (GREENE et al., 2001; GREENE & LEVY, 2012; SYKES, 2014b; PARRISH, 2017).

### 1.1.2. Passive Übertragung von Antikörpern

Ähnlich wie die natürliche Übertragung maternaler Antikörper funktioniert auch die artifizielle Übertragung spezifischer Antikörper (RIMMELZWAAN & OSTERHAUS, 1997; KRETH, 2005). Dieses Prinzip der sogenannten „Serumtherapie“ geht auf die beiden Mitarbeitern Robert Kochs, dem Deutschen Emil von Behring (1854–1917) und dem Japaner Schibasaburo Kitasato (1856–1931), zurück, die ihre Erkenntnisse über die Schutzwirkung von Diphtherie- und Tetanusantitoxin am 04.12.1890 in dem Artikel *„Ueber das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Thieren“* veröffentlichten (SCHOTT, 2004; HEININGER et al., 2005; STIFTUNG DEUTSCHES HISTORISCHES MUSEUM BERLIN, 2014; BERGMANN et al., 2016). Im Gegensatz zum rein präventiven Charakter einer aktiven Immunisierung wird die passive Immunisierung nicht nur zur kurzzeitigen Immunprophylaxe, sondern auch zur adjuvanten Therapie eingesetzt (KRETH, 2005; GREENE & LEVY, 2012; BERGMANN et al., 2016; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017; TIZARD, 2018h). Dabei macht man sich zunutze, dass übertragene, genau wie selbst gebildete, Antikörper in der virämischen Phase einer Infektion extrazelluläre Viruspartikel binden und neutralisieren können (DAY et al., 2016). Bei einem Virussystem wie CPV, bei dem Antikörper nachweislich mit einer Protektion assoziiert sind (siehe auch 1.) und bis dato keine kausale Therapie zur Verfügung steht, könnten passiv übertragene Antikörper eine wirksame Option sein (BAYRY et al., 2004).

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, fremde Antikörper auf einen Hund zu übertragen, zum einen als (1) heterologe, also artfremde, Serum- oder Immunglobulinzubereitungen, oder zum anderen als (2) homologes Plasma oder Serum, das von einem Hund gewonnen wurde, der kürzlich geimpft worden war oder eine Infektion durchlaufen hatte (BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017). Als sogenanntes „Hyperimmunserum“ wird Serum von Tieren eingesetzt, die mehrfach

gegen CPV geimpft wurden (DAY & SCHULTZ, 2014m; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017). Da der Effekt von Wiederholungsimpfungen durch bereits bestehende Antikörper neutralisiert wird, sind hohe Antikörperspiegel durch eine MLV-Impfung jedoch nur schwer zu induzieren (GREENE & LEVY, 2012).

Die Verabreichung der Antikörper erfolgt meist parenteral, wodurch gute systemische Konzentrationen erreicht werden können. Dabei ist sowohl eine subkutane, intraperitoneale oder auch intramedulläre Applikation möglich. Bei einer intravenösen Verabreichung sollte stets Plasma verwendet werden, da Serumgaben mit einer pathologisch gesteigerten Gerinnung und einem dadurch erhöhten Thromboserisiko verbunden sind (SCHIMPF et al., 1964; GREENE & LEVY, 2012). Im Vergleich zu einer intramuskulären Injektion muss jedoch bei einer intravenösen Infusion mit einer deutlich kürzeren Halbwertszeit der Antikörper (17,7 Tage versus 23,8 Tage bei menschlichen anti-HB-Immunglobulinen) gerechnet werden, da diese im Blutkreislauf schneller durch Zellen des mononukleär-phagozytären Systems (MPS) abgebaut werden (SHIBATA et al., 1983). Eine intravenöse Gabe ist immer dann vorzuziehen, wenn möglichst schnell ein Wirkspiegel aufgebaut werden soll; dabei sollte besonderes Augenmerk auf eine langsame, körperwarmer Applikation und ein gutes, ausreichend langes Monitoring gelegt werden (KRETH, 2005).

Der große Vorteil der passiven Immunisierung besteht darin, dass eine sofortige, wenngleich auch zeitlich begrenzte, Schutzwirkung induziert wird (KRETH, 2005; GREENE & LEVY, 2012; DAY & SCHULTZ, 2014m; TIZARD, 2018h). Davon profitieren insbesondere Hunde unter hohem Infektionsdruck, bei denen eine Impfung nicht schnell genug die erforderliche Protektion vermitteln kann (z. B. bei Aufnahme ins Tierheim) oder bei denen eine Impfung (insbesondere mit MLV) aufgrund eines ungenügenden Alters (unter vier Wochen) oder aufgrund immunsuppressiver Erkrankungen kontraindiziert ist (RIMMELZWAAN & OSTERHAUS, 1997; GREENE & LEVY, 2012; STIKO VET AM FLI, 2017b, 2019). Der Schutzeffekt wird wesentlich von der Menge und Qualität der übertragenen Antikörper bestimmt. Passiv übertragene Antikörper bieten jedoch keine absolute Protektion und die Schutzwirkung kann bei massivem Infektionsdruck durchbrochen werden; dies hat meist abgeschwächte, mildere Krankheitsverläufe zur Folge (KRETH, 2005).

Da Hunde hypoglobulinämisch geboren werden, sind Welpen für einen



ausreichenden Immunschutz gegen CPV zwingend auf den kolostralen Transfer von MDA in den ersten Lebensstunden angewiesen (CHASTANT-MAILLARD et al., 2012; MILA et al., 2014a; CHASTANT-MAILLARD et al., 2016; CHASTANT-MAILLARD & MILA, 2016; CHASTANT-MAILLARD et al., 2017). Bei Neugeborenen mit ungenügender Kolostrumaufnahme wird in den ersten 24 Lebensstunden die orale Verabreichung eines Kolostrumersatzes, bestehend aus 50 % Milchaustauscher und 50 % Immuns Serum, vorzugsweise von der eigenen Mutter oder einem anderen gut geimpften Hund aus dem Umfeld, empfohlen (DAY et al., 2016). Da es bei fehlender Kolostrumaufnahme zu einem deutlich verzögerten Verschluss der Darmbarriere kommt (TIZARD, 2018g), wird eine orale Gabe von Immunglobulinen in den ersten 48 Stunden als sinnvoll erachtet (BERGMANN et al., 2016). Danach sollten Immunglobuline vorzugsweise parenteral übertragen werden. Die Immunglobulinkonzentration im Serum adulter Hunde ist etwa dreimal niedriger als die im caninen Kolostrum (CHASTANT-MAILLARD & MILA, 2016). Abhängig von der Größe der Welpen wird die Applikation von 3 bis 10 Millilitern (ml) Serum oder Plasma zweimal täglich an bis zu drei aufeinanderfolgenden Tagen empfohlen (DAY et al., 2016). Andere Dosierungsempfehlungen werden zwischen 2,2 bis 4 ml Serum oder Plasma/100 g KGW angegeben (POFFENBARGER et al., 1991; BOUCHARD et al., 1992; GREENE & LEVY, 2012; MILA et al., 2014a). Es gibt zwei Studien, die die Effektivität von caninem Serum als alternative Immunglobulinquelle bei Hundewelpen näher untersuchten. Dabei konnten bei Hunden, im Unterschied zu Katzen (LEVY et al., 2001), weder durch orale noch durch subkutane Verabreichung Serum-IgG-Konzentrationen erzielt werden, die auch nur annähernd mit der von Welpen nach natürlicher Kolostrumaufnahme vergleichbar waren (POFFENBARGER et al., 1991; BOUCHARD et al., 1992). Zumindest aber die minimale protektive Konzentration größer ( $>$ ) 2,3 g IgG/l Serum (MILA et al., 2014a; CHASTANT-MAILLARD et al., 2017; MILA et al., 2017) wurde in einer der beiden Studien durch Verabreichung von 8 ml gepooltem Serum unmittelbar nach der Geburt erreicht; eine subkutane Applikation hatte allerdings großflächige Hautnekrosen an der Injektionsstelle zur Folge (BOUCHARD et al., 1992; MILA et al., 2017). Werden homologe Antikörper in Form von Plasma (oder auch Serum) als zusätzliche Immunglobulinquelle bei säugenden Welpen verabreicht und nicht als Kolostrumersatz, so wird die Serum-IgG-Konzentration dadurch nicht gesteigert (MILA et al., 2014a). Allerdings kann eine orale Plasmagabe einen

positiven Effekt auf die Gewichtszunahme, die mikrobielle Diversität der Darmflora und das allgemeine Erkrankungsrisiko haben (MILA et al., 2016a; MILA et al., 2016b; MILA et al., 2017). Neben Plasma und Serum wird auch hyperimmunes Eipulver von Hühnern, die gegen CPV geimpft wurden, zur Immunprophylaxe bei Welpen eingesetzt (FEUGIER et al., 2015). So konnte durch eine Supplementierung von 125 Milligramm (mg) hyperimmunem Eipulver/100 g KGW (angemischt in einem kommerziellen Milchaustauscher für Hunde) innerhalb der ersten acht Lebensstunden eine deutliche Gewichtszunahme über die gesamte Perinatalzeit erzielt werden (MILA et al., 2016c). Bovines Kolostrum wäre aufgrund der guten Verfügbarkeit eine denkbare heterologe Immunglobulinquelle. Zum jetzigen Zeitpunkt gibt es allerdings noch keine Daten über dessen immunologischen Wert bei Hundewelpen (CHASTANT-MAILLARD & MILA, 2016).

Im Frühstadium der caninen Parvovirose kann die passive Immunisierung auch als therapeutische Maßnahme genutzt werden (GODDARD & LEISEWITZ, 2010; NANDI & KUMAR, 2010; GREENE & DECARO, 2012). Dabei sollte eine möglichst frühzeitige Applikation innerhalb von 24 bis 48 Stunden post infectionem erfolgen; weiterhin sollte darauf geachtet werden, eine genügend hohe Menge an Antikörpern zu übertragen (SYKES, 2014b). In mehreren Studien konnten Mortalität und Krankheitsverlauf positiv beeinflusst werden. So konnten bei vier ungeschützten Beaglewelpen nach experimenteller Infektion klinische Symptome, Lymphopenie, und Virusausscheidung durch die intravenöse Verabreichung eines homologen, hochtitrigen Serums (HAH-Titer 10.240) 24 Stunden post inoculationem verhindert werden (MEUNIER et al., 1985a). In einer weiteren experimentellen Studie wurde vier Welpen mit einem CPV-Titer kleiner ( $<$ ) 32 vier Tage post inoculationem jeweils 2 ml eines homologen, hochtitrigen Serums (HAH-Titer 8.192) intravenös appliziert. Sie zeigten nur milde klinische Symptome und überlebten, während die sechs Welpen der Kontrollgruppe allesamt schwer erkrankten und zur Hälfte verstarben (ISHIBASHI et al., 1983). Auch bei 21 Hunden mit natürlicher CPV-Infektion konnte die einmalige Anwendung von gefriergetrocknetem IgG zusätzlich zur symptomatischen Therapie einen positiven Effekt auf Hospitalisierungsdauer und klinische Symptomatik bewirken (MACINTIRE et al., 1999). Hingegen wurde in einer zweiten, ebenfalls placebokontrollierten, klinischen Studie bei sieben Welpen mit natürlicher CPV-

Infektion kein signifikanter Nutzen hinsichtlich Hospitalisierungszeit, klinischen Symptomen, Viruslast und Laborparametern nachgewiesen. Die Welpen hatten zwölf bis 72 Stunden nach Einsetzen der klinischen Symptome unabhängig von ihrem Körpergewicht einmalig 12 ml eines homologen, hochtitrigen Plasmas (durchschnittlicher Titer 7.000) erhalten (BRAGG et al., 2012). Andere Autoren empfehlen für einen therapeutischen Einsatz ein sehr viel höheres Volumen von 6,6 bis 11 ml Plasma/Kilogramm (kg) KGW, das mindestens dreimalig innerhalb der ersten zwei Tage verabreicht werden sollte (DODDS, 2012). Für die therapeutische Anwendung von konvaleszentem Hundeserum finden sich anekdotische Dosierungsempfehlungen von 1,1 bis 2,2 ml/kg KGW (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982b; BRUNNER & SWANGO, 1985; MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997). Auch hyperimmunes Eipulver mit spezifischen Antikörpern gegen CPV wird zur Therapie eingesetzt. In einer experimentellen Studie konnte gezeigt werden, dass Welpen ohne detektierbare spezifische Antikörper, denen kurz nach oraler Inokulation mit CPV dreimal täglich Immunglobulin-Y aus Eidotter verabreicht wurde, abhängig von der Dosierung keine oder nur milde klinische Symptome entwickelten (VAN NGUYEN et al., 2006).

In einigen Ländern sind Immunseren auch kommerziell erhältlich (SYKES & PAPICH, 2014; DAY et al., 2016). So hatte FLÜCKIGER bereits bei den ersten CPV-Ausbrüchen in der Schweiz ab dem Jahr 1978 ein heterologes Serumpräparat mit Antikörpern gegen felines Panleukopenievirus (FPV) (Sérocet, Iffa-Mérieux, Biokema, SA, Crissier) zur Immunprophylaxe in Hundezuchten eingesetzt (FLÜCKIGER, 1980). Dieses Arzneimittel ist mittlerweile nicht mehr zugelassen. Für den deutschen Markt besitzen gegenwärtig noch zwei polyvalente Hyperimmunseren eine Zulassung, ein homologes und ein heterologes auf Basis equiner Proteine (Tabelle 2) (PAUL-EHRLICH-INSTITUT (BUNDESINSTITUT FÜR IMPFSTOFFE UND BIOMEDIZINISCHE ARZNEIMITTEL), 2019b).

**Tabelle 2: In Deutschland zugelassene Immunseren gegen canine Parvovirose**

auf dem Stand der Bekanntmachung des Paul-Ehrlich-Instituts (PEI) Nummer 457 über die Zulassung von Impfstoffen und biomedizinischen Arzneimitteln sowie andere Amtshandlungen im Bundesanzeiger des Bundesministeriums der Justiz und für Verbraucherschutz vom 08.04.2019 (PAUL-EHRLICH-INSTITUT (BUNDESINSTITUT FÜR IMPFSTOFFE UND BIOMEDIZINISCHE ARZNEIMITTEL), 2019b), ergänzt durch zusätzliche Informationen zu arzneilich wirksamen Bestandteilen (PharmNet.Bund, das Portal für Arzneimittelinformationen des Bundes und der Länder, verfügbar unter: <https://www.pharmnet-bund.de/dynamic/de/arzneimittel-informationssystem/index.html> [abgerufen am: 11.06.2019]).

Stagloban® SHP besitzt zwar nach wie vor eine Marktzulassung, ist aber seit 2010 nicht mehr verfügbar.

Immunseren			
Name	Bestandteile	Hersteller	Zulassungsdatum
Feliserin® Plus	equine Proteine mit neutralisierenden Antikörpern gegen FPV, Stoffmenge mind. $10^{4,0}$ ND <sub>50</sub> , sowie Antikörpern gegen FHV-1 und FCV	IDT Biologika GmbH, Deutschland	22.01.2004
Stagloban® SHP	canine Immunglobuline mit CPV-Antikörpern, Titer mind. 1:10.000, sowie CDV- und CAV-2-Antikörpern	IDT Biologika GmbH, Deutschland	27.12.1994

®: registered trademark (registrierte Warenmarke), CAV-2: canines Adenovirus-2, CDV: canine distemper virus (canines Staupevirus), CPV: canines Parvovirus, FCV: felines Calicivirus, FHV-1: felines Herpesvirus-1, FPV: felines Panleukopenievirus, mind.: mindestens, ND<sub>50</sub>: neutralisierende Dosis 50 %.

In unterschiedlicher Dosierung ist Stagloban® SHP sowohl zur Prophylaxe als auch zur unterstützenden Therapie bei caniner Parvovirose vorgesehen. In einer retrospektiven Untersuchung an 63 Hunden mit akuter hämorrhagischer Gastroenteritis, darunter 33 CPV-positive Tiere, konnte jedoch kein signifikanter Einfluss auf die Überlebensrate bei der Anwendung von Stagloban® SHP nachwiesen werden (BRINKE & NEIGER, 2010). Die Produktion des Präparates wurde im Jahr 2010 eingestellt; eine Wiederauflage ist derzeit nicht geplant. Somit ist Feliserin® Plus das einzige kommerzielle veterinärmedizinische Immunserum, das gegenwärtig auf dem deutschen Markt erhältlich ist. Dabei wurde Feliserin plus® ursprünglich als Feliserin® PRC für die Anwendung bei feliner Panleukopenie und Katzenschnupfen entwickelt, besitzt aber seit 2012 eine erweiterte Zulassung zum prophylaktischen und therapeutischen Einsatz bei caniner Parvovirose. Aufgrund der engen genetischen Verwandtschaft zwischen FPV und CPV (APPEL et al., 1979a; APPEL et al., 1979b; BLACK et al., 1979; GAGNON & POVEY, 1979; JOHNSON & SPRADBROW, 1979; LENGHAUS & STUDDERT, 1980; OSTERHAUS et al., 1980a; OSTERHAUS et al., 1980b; PARRISH et al., 1988a; MARTYN et al., 1990; TRUYEN, 1994; APPEL, 1999; PARRISH, 1999; TRUYEN, 1999; HOELZER & PARRISH, 2010; TRUYEN &

PARRISH, 2013) wurde eine Kreuzprotektivität der felines Antikörper vermutet. In der Studie von GERLACH und anderen (et alii (et al.)) konnte auch tatsächlich eine vollständige Neutralisation von CPV durch FPV-Antikörper in vitro bestätigt werden (GERLACH et al., 2017). Allerdings war die Verabreichung in einer Dosierung von 0,2 ml/kg KGW bei Hunden mit Parvovirose in einer placebokontrollierten Studie nicht von therapeutischem Nutzen. Die Autoren diskutierten, dass höhere Dosierungen möglicherweise zu einem signifikanten Effekt geführt hätten (GERLACH et al., 2017). Für die derzeit vom Hersteller empfohlene Dosis von 0,4 ml/kg KGW einmal täglich als subkutane oder intramuskuläre Injektion bis zur klinischen Besserung (IDT BIOLOGIKA GMBH, 2017) liegen aktuell noch keine Studien vor.

Neben den positiven Aspekten einer passiven Immunisierung sind allerdings auch einige Nachteile zu benennen. Zum einen ist die Schutzwirkung durch die natürliche biologische Halbwertszeit der Antikörper begrenzt, sodass die Hunde bereits nach zwei bis drei Wochen wieder für eine Infektion mit CPV empfänglich sind (SYKES & PAPICH, 2014). Weiter können große Mengen passiv übertragener Antikörper eine aktive Immunantwort auf die Impfung durch eine Feedback-Regulation, ähnlich wie bei MDA, verhindern oder verzögern (GREENE & LEVY, 2012; DAY & SCHULTZ, 2014m; SYKES & PAPICH, 2014; TIZARD, 2018h). Eine Impfung sollte deshalb frühestens drei Wochen nach der Anwendung von Immunseren erfolgen (GREENE & LEVY, 2012; STIKO VET AM FLI, 2019). Werden homologe Zubereitungen verabreicht, besteht auch die Gefahr, dass Infektionserreger und Blutparasiten, beispielsweise Babesien oder Leishmanien, übertragen werden (ISHIBASHI et al., 1983; GREENE & LEVY, 2012; DAY et al., 2016). Bei heterologen Formulierungen kann es durch die großen Mengen an Fremdprotein zu schweren allergischen Reaktionen kommen, wie der sogenannten „Serumkrankheit“, einer generalisierten Typ-III-Hypersensitivitätsreaktion durch zirkulierende Immunkomplexe (BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017; TIZARD, 2018h, 2018l). Bei wiederholten Gaben ist auch eine IgE-vermittelte Typ-I-Hypersensitivitätsreaktion bis hin zum anaphylaktischen Schock möglich (DAY & SCHULTZ, 2014m; TIZARD, 2018h, 2018k). Daher sollte auf eine erneute Verabreichung von heterologem Immunserum ab dem siebten Tag nach Erstanwendung verzichtet werden (BERGMANN et al., 2016). In der Humanmedizin dürfen heterologe Antiseren (z. B. gegen Botulismus) nur nach

strenger Indikationsstellung eingesetzt werden; zudem ist vor jeder Applikation eine möglicherweise vorbestehende Allergie über einen Intrakutantest auszuschließen (KRETH, 2005).

### **1.1.3. Antikörper nach Infektion**

Die Protektion nach einer CPV-Infektion ist langlebig und stabil (POLLOCK & CARMICHAEL, 1983a; POLLOCK & COYNE, 1993; SMITH-CARR et al., 1997; COYNE et al., 2001; SCHULTZ, 2006; GODDARD & LEISEWITZ, 2010). Man geht davon aus, dass Hunde, die eine natürliche Infektion oder Erkrankung durchlaufen haben, lebenslang geschützt sind (SCHULTZ et al., 2010; GREENE & DECARO, 2012; SYKES, 2014b; DAY et al., 2016; PARRISH, 2017).

Infektionsexperimente mit CPV, insbesondere an spezifisch pathogenfreien (SPF) Hunden, sind nicht mit einer natürlichen Infektion im Feld gleichzusetzen und führen nicht immer zu einer klinischen Erkrankung (APPEL et al., 1979b; APPEL et al., 1980b; OSTERHAUS et al., 1980b; POLLOCK, 1982; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a; SIEGL, 2012). Dennoch können diese Untersuchungen wertvolle Informationen liefern und zum Verständnis der Immunantwort auf eine CPV-Infektion beitragen. Antikörper gegen CPV können bereits ab dem dritten bis fünften Tag nach Erstkontakt mit dem Virus im Serum nachgewiesen werden und erreichen schon am siebten bis zehnten Tag hohe Werte (APPEL et al., 1980b; CARMICHAEL et al., 1980; ROBINSON et al., 1980; WOODS et al., 1980; POLLOCK, 1982; NARA et al., 1983; MACARTNEY et al., 1984; MEUNIER et al., 1985b; GREENE & DECARO, 2012; LI & HUMM, 2015; PARRISH, 2017). Dabei werden Antikörper bei parenteraler Infektion etwa 24 bis 48 Stunden früher gebildet als bei oronasaler Infektion (POLLOCK, 1982). So konnten bei einem intravenösen Belastungsversuch bereits am vierten Tag HAH-Titer zwischen 320 und 1.280 detektiert werden (ROBINSON et al., 1980), während in einer anderen Studie nach oraler Inokulation erst am fünften Tag HAH-Titer zwischen 10 und 320 gemessen wurden (CARMICHAEL et al., 1980). In einer weiteren experimentellen Studie waren erst am achten Tag nach oralem und intranasalem Challenge CPV-Antikörpertiter zwischen 40 und 160 nachweisbar (POTGIETER et al., 1981). SMITH et al. konnten feststellen, dass klinische Symptome mindestens 24 Stunden vor der Entstehung messbarer Antikörper auftraten; die Titer der Hunde stiegen innerhalb der ersten Krankheitswoche stark an (SMITH et al., 1980a). Bei überlebenden Welpen wird mit dem Einsetzen der systemischen humoralen

Immunantwort zugleich die Virämie im Blut wirksam beendet (POLLOCK, 1982; MEUNIER et al., 1985a; MEUNIER et al., 1985b; HOARE et al., 1997; PRITTIE, 2004). Welpen mit klinischer Erkrankung wiesen in den ersten drei bis sechs Tagen post infectionem durchschnittlich niedrigere Antikörperspiegel gegen CPV auf als asymptomatische Hunde. Diese verzögerte Immunantwort der kranken Hunde war mit einer länger persistierenden Virämie und einem schwereren Krankheitsverlauf assoziiert (MEUNIER et al., 1985b). Auch POTGIETER et al. konnten zeigen, dass eine klinische Genesung mit einer schnellen systemischen Immunantwort in Form eines schnellen Antikörperanstiegs verbunden ist (POTGIETER et al., 1981). Sehr hohe Antikörper gegen CPV (teils  $> 80.0000$ ) werden bei frühkonvaleszenten Tieren gemessen (MANN et al., 1980; SIEGL, 2012; MAHON et al., 2017). Danach fallen die Antikörper über Tage oder Wochen deutlich ab, etwa um das Zwei- bis Vierfache innerhalb der ersten drei Monate (POLLOCK & CARMICHAEL, 1983a); anschließend bleiben sie auf einem niedrigeren Niveau über Monate oder sogar Jahre weitgehend konstant (PRITTIE, 2004; GREENE & DECARO, 2012; SIEGL, 2012). Die lange Persistenz der Antikörper gegen CPV konnte in verschiedenen Studien belegt werden. Selbst bei ausbleibender Boosterung durch wiederholte Exposition verändern sich die Titer nur geringfügig. So hatten vier Hunde, die nach überstandener Infektion in Isolation gehalten wurden, 16 Monate später noch HAH-Titer zwischen 640 und 2.560 (POLLOCK & CARMICHAEL, 1981). In einer anderen Untersuchung konnten HAH-Titer  $\geq 320$  noch zehn (Anzahl der Probanden ( $n = 5$ )) und 20 Monate ( $n = 3$ ) nach einer Infektion gemessen werden. Auch diese Hunde waren über die gesamte Zeit in Isolation gehalten worden (POLLOCK & CARMICHAEL, 1983a). Das Vorhandensein eines Schutzes dieser Hunde wurde auch durch einen Belastungsversuch zwölf ( $n = 2$ ) und 20 Monate ( $n = 2$ ) nach der initialen Infektion bestätigt. Keiner der Hunde entwickelte nach dem erneuten Challenge Symptome, einen Anstieg der Antikörper oder eine Virusausscheidung im Kot. Zwei Vergleichshunde, die in der Vergangenheit ebenfalls eine Infektion durchlaufen hatten, wurden vier Tage nach einem weiteren Belastungsversuch sechs und 20 Monate später pathologisch untersucht. Das Virus konnte weder aus dem Kot, dem Serum noch aus lymphatischen Organen, wie Thymus, Tonsillen, Dünndarm, Mesenteriallymphknoten oder Milz, isoliert werden; dies belegt, dass auch hier eine Protektion vorlag (POLLOCK & CARMICHAEL, 1983a).

Von einer klinisch manifesten Infektion in Form einer akuten CPV-Enteritis sind meist Hunde im Alter von sechs Wochen bis sechs Monaten betroffen (SMITH et al., 1980a; HAMMOND & TIMONEY, 1983; HORNER, 1983; STUDDERT et al., 1983; GLICKMAN et al., 1985; POSPISCHIL & YAMAHO, 1987; POLLOCK & COYNE, 1993; SMITH-CARR et al., 1997; MARTINOD, 1999; PRITTIE, 2004; MOHAMMED et al., 2005; LAMM & REZABEK, 2008; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; KALLI et al., 2010; GREENE & DECARO, 2012; LING et al., 2012; GRELLET et al., 2014; SYKES, 2014b; LI & HUMM, 2015; MIRANDA et al., 2015). Bereits 1980 beobachteten ROBINSON et al., dass 60 % der Hunde, die mit einer klinischen Parvovirose an der Universitätstierklinik von Ohio stationär behandelt wurden, jünger als ein Jahr waren. Die Autoren vermuteten ein immatures Immunsystem und eine schnellere Proliferationsrate empfindlicher Gewebe als relevante Einflussgrößen (ROBINSON et al., 1980). Es ist bekannt, dass v. a. mütterliche Immunglobuline aus dem Kolostrum für den Immunschutz der Welpen in den ersten Lebenswochen entscheidend sind (siehe auch 1.1.1.). Mit dem Abfall der MDA werden Welpen empfänglich für eine Infektion (MEUNIER et al., 1981; HIRASAWA et al., 1982; HOELZER & PARRISH, 2010; SIEGL, 2012; LI & HUMM, 2015; MIRANDA et al., 2015). Besonders kritisch ist der Zeitraum, wenn die MDA soweit abgebaut sind, dass kein ausreichender Schutz mehr gewährleistet ist, aber eine Impfung noch immer wirksam blockiert wird (CARMICHAEL et al., 1983; RIMMELZWAAN & OSTERHAUS, 1997; DAY & SCHULTZ, 2014k). Stress, intestinale Parasiten, Protozoen oder bestimmte Darmbakterien sowie ein hoher CPV-Infektionsdruck in einem überfüllten und unhygienischen Umfeld werden als weitere prädisponierende Faktoren für eine Parvovirose bei Welpen angeführt (POLLOCK, 1982; SMITH-CARR et al., 1997; GREENE & DECARO, 2012; SIEGL, 2012; ZHENG et al., 2018). In Hinblick auf die Saisonalität gibt es unterschiedliche Daten aus verschiedenen geographischen Regionen. So berichten einige Autoren von einer höheren Inzidenz im Frühjahr und Sommer (HORNER, 1983; HOUSTON et al., 1996; SHAKESPEARE, 1999; REWERTS & COHN, 2000), Herbst und Winter (MEUNIER et al., 1981; STUDDERT et al., 1983; POSPISCHIL & YAMAHO, 1987), Frühjahr und Herbst (LING et al., 2012) oder Sommer und Winter (CASTRO et al., 2007), während in wieder anderen Untersuchungen gar kein saisonaler Einfluss (STANN et al., 1984; KALLI et al., 2010) detektiert wurde. Zudem scheinen in einigen Studien bestimmte Rassen, wie Rottweiler, Dobermann, American Pit Bull Terrier,



Chihuahua, Deutscher Schäferhund, English Springer Spaniel, Labrador Retriever, Yorkshire Terrier oder Alaska-Schlittenhunde, für schwere klinische Verlaufsformen prädisponiert zu sein (GLICKMAN et al., 1985; POSPISCHIL & YAMAHO, 1987; HOUSTON et al., 1996; SMITH-CARR et al., 1997; MARTINOD, 1999; KUMAR et al., 2011; GREENE & DECARO, 2012; KAUR et al., 2014; FILIPOV et al., 2016; SARPONG et al., 2017). Ursächlich könnte bei bestimmten Zuchtlinien ein genetisch bedingtes suboptimales Ansprechen auf die Impfung zugrunde liegen (GREENE et al., 2001; DAY, 2006, 2007b; DAY et al., 2016; FORD et al., 2017), wenngleich die genauen Mechanismen nicht geklärt sind (HOSKINS, 1997). Aufgrund genetischer Veränderungen in der Zucht ist die Relevanz solcher Rasseprädispositionen zunehmend umstritten (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017). Wenngleich reinrassige Hunde in Studien vielfach überrepräsentiert sind, wurde gerade in neueren Untersuchungen kein Einfluss bestimmter Rassen auf das Erkrankungsrisiko nachgewiesen (MOHAMMED et al., 2005; CASTRO et al., 2007; JOÃO VIEIRA et al., 2008; KALLI et al., 2010; LING et al., 2012; MIRANDA et al., 2015).

Adulte Hunde über einem Jahr sind vor einer klinischen Erkrankung weitgehend geschützt (ABDELMAGID et al., 2004; DECARO et al., 2008; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; MIRANDA et al., 2015). Neben der Impfung tragen v. a. subklinische oder klinisch inapparente Infektionen entscheidend zur Entstehung von Antikörpern und zur Immunität innerhalb der Population bei (DECARO et al., 2005a; LARSON & SCHULTZ, 2007). Durch Antikörperuntersuchungen wurde nachgewiesen, dass eine Exposition zu CPV häufig vorkommt und dass diese insbesondere bei adulten Hunden nicht notwendigerweise mit klinischen Symptomen assoziiert ist (siehe auch 1.2.). Als CPV Ende der 1970er Jahre als neues Pathogen in der Hundepopulation auftrat, stellten OSTERHAUS et al. fest, dass adulte Hunde in den Niederlanden zwischen 1976 und 1979 Antikörper gegen CPV erworben hatten, ohne dass von offensichtlichen klinischen Symptomen oder einer Impfung berichtet worden war (OSTERHAUS et al., 1980a). Auch JONES et al. entdeckten zufällig erworbene Antikörper bei 23 % (24/106) der Hunde, die ihnen zwischen dem 01. Dezember 1980 und dem 01. März 1981 zur Erstimpfung gegen CPV vorgestellt wurden. Dabei war canine Parvovirose als Erkrankung in Neuseeland überhaupt erstmalig im Juli 1979 beschrieben worden (JONES et al., 1982).

Aufgrund der insgesamt hohen Prävalenz von Antikörpern gegen CPV in der Hundepopulation (siehe auch 1.2.) ist der Antikörpernachweis nicht für die Diagnose einer caninen Parvovirose geeignet (STANN et al., 1984; MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; SYKES, 2014b). Langanhaltende IgG-Antikörper können sowohl durch natürliche Exposition in der Vergangenheit oder vorangegangene Impfungen induziert werden (PALMA et al., 2016). Daher würde eine antikörperbasierte Diagnose einer caninen Parvovirose den Nachweis eines mindestens vierfachen Titeranstiegs innerhalb von zehn bis 14 Tagen in Verbindung mit entsprechenden klinischen Symptomen erfordern (HELFER-BAKER et al., 1980; GREENE & DECARO, 2012; SYKES & RANKIN, 2014). Eine Diagnose mittels Antikörperbestimmung wird nicht zuletzt dadurch erschwert, dass betroffene Hunde in der Frühphase der Erkrankung oft noch keine nachweisbaren Antikörper ausgebildet haben (SYKES, 2014b).

Neben systemischen Antikörpern im Serum werden bei einer Infektion auch lokale intestinale Antikörper induziert (NARA et al., 1983). Diese sekretorischen Immunglobuline können zwar für die mukosale Immunität gegen CPV nützlich sein (NIEWIESK & OGLESBEE, 2017) und die Virusausscheidung im Kot beenden; für die langandauernde protektive Immunität spielen sie aber keine Rolle (RIMMELZWAAN & OSTERHAUS, 1997). Lokale intestinale Antikörper persistieren nicht länger als 15 Tage post infectionem (GREENE & DECARO, 2012). Umgekehrt ist eine Virusreplikation im Darmepithel auch in Gegenwart hoher systemischer MDA-Titer von bis zu 160 möglich (DECARO et al., 2005a).

#### **1.1.4. Antikörper nach Impfung**

Die Impfung gegen CPV gilt als sehr erfolgreich. Seit dem breiten Einsatz wirksamer und sicherer Impfstoffe sind CPV-Epidemien in der Hundepopulation selten geworden (APPEL, 1999; ROTH, 1999; TRUYEN, 2000; GREENE et al., 2001). Dabei hängt die Persistenz von Antikörpern nach einer Impfung gegen CPV und eine damit verbundene Protektion entscheidend vom Typ der Impfung und der Höhe der initialen Immunantwort ab (CARMICHAEL et al., 1983; POLLOCK & CARMICHAEL, 1983a; CHAPPUIS, 1998). Unter optimalen Voraussetzungen können moderne homologe MLV einen vollständigen und langjährigen Schutz vor klinischer Erkrankung vermitteln (CARMICHAEL, 1999; LARSON et al., 2009). Bereits nach einer einzigen Anwendung ist innerhalb von nur drei bis sechs Tagen die Ausbildung eines Immunschutzes möglich (SCHULTZ & LARSON, 1996;

GREENE et al., 2001; KANELLOS et al., 2006b; SYKES, 2014a; DAY et al., 2016). Allerdings ist hier von einer gewissen Variabilität bei verschiedenen Produkten auszugehen. So konnte z. B. eine kommerzielle CPV-2-Vakzine bei Welpen erst nach 14 Tagen spezifische Antikörper induzieren, wohingegen nach der Impfung mit einer CPV-2b-Vakzine bereits nach sieben Tagen Antikörper detektiert wurden (DECARO et al., 2014).

Diverse Studien untersuchten die Effektivität und die Dauer der Immunität (duration of immunity (DOI)) nach einer Impfung gegen CPV mittels Infektionsversuchen und Antikörpermessungen. Allerdings ist zu bedenken, dass im Verlauf der Zeit verschiedenste Vakzinen gegen CPV eingesetzt wurden, die sich hinsichtlich ihrer Wirksamkeit z. T. sehr deutlich voneinander unterscheiden (LARSON & SCHULTZ, 1997; COYNE et al., 2001; ROTH & SPICKLER, 2010). Weiter wird die Durchführung zufriedenstellender DOI-Studien durch die hohe Kontagiosität und Tenazität von CPV erschwert (MURISIER et al., 1983; POVEY et al., 1983; SIEGL, 2012). So mussten Studien aufgrund von Kontamination mitunter vorzeitig abgebrochen werden (POVEY, 1982). Kontrollierte Langzeitstudien sind daher selten (siehe auch Tabelle 3). Kurzzeitstudien erlauben jedoch keine Erkenntnis darüber, ob und in welchem Umfang impfinduzierte Antikörpertiter mit der Zeit abfallen und welche Auswirkungen dies auf eine Schutzwirkung im Infektionsexperiment zur Folge hat (DECARO et al., 2009; HERNÁNDEZ-BLANCO & CATALA-LÓPEZ, 2015). Antikörpermessungen im Feld sind grundsätzlich hilfreich, können aber nicht als validierte DOI-Studien für Impfstoffe angesehen werden, da eine Triggerung der humoralen Immunantwort durch natürliche Exposition zu CPV wahrscheinlich ist (ABDELMAGID et al., 2004; GASKELL et al., 2006).

Nach dem ersten Auftreten von CPV im Jahr 1978 (APPEL et al., 1979a; APPEL et al., 1979b; APPEL et al., 1980b; CARMICHAEL & BINN, 1981) wurden zunächst verschiedene heterologe Vakzinen auf Basis des antigenetisch verwandten FPV oder des Nerz-Enteritis-Virus (mink enteritis virus (MEV)) (PARRISH et al., 1982a; TRATSCHIN et al., 1982) zur Impfung von Hunden eingesetzt (APPEL et al., 1979b; APPEL & CARMICHAEL, 1980b; APPEL et al., 1980b; CHAPEK et al., 1980; CHAPPUIS & DURET, 1980; FLÜCKIGER, 1980; CHAPEK et al., 1981; CARMAN & POVEY, 1982b; GORDON & ROGERS, 1982; HIRASAWA et al., 1982; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a, 1982b; WIERUP et al., 1982;

CARMICHAEL, 1983; MURISIER et al., 1983; POLLOCK & CARMICHAEL, 1983a). Die Wirksamkeit dieser Impfstoffe war jedoch variabel und die Immunität v. a. bei Vakzinen aus inaktiviertem Virus oft nur von kurzer Dauer. Eine effektive Impfung von Hunden mit heterologen Vakzinen erforderte grundsätzlich einen sehr viel höheren Antigengehalt (etwa 100 bis 1.000-fach im Vergleich zu handelsüblichen Katzenimpfstoffen) (POLLOCK & CARMICHAEL, 1983a; MAYR et al., 1984) und/oder geeignete Adjuvantien (POVEY, 1982). Es gab Befürchtungen, dass durch heterologe Passagen im Hund neue Virusvarianten mit verändertem Wirtsspektrum entstehen könnten (MURISIER et al., 1983; SIEGL, 2012). In der Folge wurden zahlreiche homologe CPV-Impfstoffe aus caniden Feldisolaten, darunter sowohl Vakzinen aus inaktiviertem Virus (APPEL & CARMICHAEL, 1980a; EUGSTER, 1980; SMITH et al., 1980b; WIERUP et al., 1980; CARMAN & POVEY, 1982a; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a, 1982b; POVEY, 1982; WALLACE & MCMILLEN, 1985; SMITH & JOHNSON, 1986) als auch erste MLV (CARMICHAEL et al., 1981a; CARMICHAEL et al., 1981b; BASS et al., 1982; CARMICHAEL, 1983; CARMICHAEL et al., 1983; KAHN et al., 1983; CARMICHAEL et al., 1984; CHURCHILL, 1987), entwickelt. Diese lösten die heterologen Impfstoffe zur Immunprophylaxe gegen CPV etwa ab dem Jahr 1982 ab (CARMICHAEL, 1997) (siehe auch 2.1.1.).

**Tabelle 3: Langzeitstudien zur Untersuchung der Effektivität und Immunitätsdauer nach Impfung gegen canine Parvovirose mittels Antikörpernachweis und Belastungsversuch über einen Zeitraum von mindestens einem Jahr**

Belastungsversuch (Challenge)	Hundepopulation (jeweils ohne CPV-Antikörper und in Isolation gehalten)		CPV-Impfung		Ergebnis (Klinik, Virusausscheidung, Leukozytenmessung, Antikörpermessung)		Publikation
	Impflinge	Kontrollhunde	Protokoll	Vakzine	Geimpfte Hunde	Kontrollhunde	
12 M nach Impfung oral oder intranasal; k. A. zu eingesetztem Virus und Dosis	4 SPF-Beagle	2 konforme Hunde	einmalige Impfung (s. c.), k. A. zum Alter (2 bis 16 M)	experimenteller Impfstoff mit attenuiertem CPV-2, Dosis $10^{6,2}$ GKID <sub>50</sub>	0/4 mit klinischen Symptomen; 0/4 mit Virusausscheidung; 4/4 mit PAT > 80 (im HAH) vor Challenge; 0/4 mit signifikantem Titeranstieg	2/2 mit klinischen Symptomen 4 bis 6 DPC (Anorexie, relative Lymphopenie oder erhöhte Temperatur); 2/2 mit Virusausscheidung 3 bis 8 DPC; 2/2 mit signifikantem Titeranstieg 14 DPC (HAH-Titer jeweils 5.120)	CAR-MICHAEL et al., 1983
12 M nach Impfung oral oder intranasal; k. A. zu eingesetztem Virus und Dosis	3 SPF-Beagle	1 konformer Hund	einmalige Impfung (s. c.), k. A. zum Alter (2 bis 16 M)	experimenteller Impfstoff mit attenuiertem CPV-2, Dosis $10^{6,0}$ GKID <sub>50</sub>	0/3 mit klinischen Symptomen; 0/3 mit Virusausscheidung; 3/3 mit PAT > 80 (im HAH) vor Challenge; 0/3 mit signifikantem Titeranstieg	1/1 mit klinischen Symptomen Temperatur 4 bis 6 DPC (Anorexie, relative Lymphopenie oder erhöhte Temperatur); 1/1 mit Virusausscheidung 2 bis 7 DPC; 1/1 mit signifikantem Titeranstieg innerhalb von 14 DPC (HAH-Titer 5.120)	CAR-MICHAEL et al., 1983
24 M nach Impfung oral oder intranasal; k. A. zu Virus und Dosis	6 SPF-Beagle	2 konforme Hunde	einmalige Impfung im Alter von 14 M (s. c.)	experimenteller Impfstoff mit attenuiertem CPV-2, Dosis $10^{5,2}$ GKID <sub>50</sub>	0/6 mit klinischen Symptomen; 0/6 mit Virusausscheidung; 5/6 mit PAT > 1:80 (im HAH) vor Challenge; 1/6 mit Titer = 80 vor Challenge und signifikantem Titeranstieg innerhalb von 14 DPC (HAH-Titer > 10.240)	0/2 mit klinischen Symptomen; 2/2 mit Virusausscheidung 4 bis 7 oder 5 bis 7 DPC; 2/2 mit signifikantem Titeranstieg innerhalb von 14 DPC (HAH-Titer jeweils > 10.240)	CAR-MICHAEL et al., 1983

**Fortsetzung Tabelle 3:**

Belastungs- versuch (Challenge)	Hundepopulation (jeweils ohne CPV- Antikörper und in Isolation gehalten)		CPV-Impfung		Ergebnis (Klinik, Virusausscheidung, Leukozytenmessung, Antikörpermessung)		Publikation
	Impf- linge	Kontroll- hunde	Protokoll	Vakzine	Geimpfte Hunde	Kontrollhunde	
mit CPV-2 (10 <sup>5.1</sup> GKID <sub>50</sub> ) 52 W nach Impfung oral (begleitet von Futterentzug)	5 SPF- Misch- linge	3 konforme Hunde	Erstimpfung mit 8 bis 12 W, Wiederholungs- impfung im Abstand von 2 W (3 × s. c., 2 × i. m.)	inaktivierter, adjuvanter CPV- 2-Impfstoff	4/5 komplett geschützt; 1/5 mit eintägigem milden Durchfall; 3/5 mit Virusausscheidung (2/3 in reduzierter Menge) innerhalb von 9 DPC; 1/5 mit PAT > 80 (im HAH) vor Challenge; 1/5 mit signifikantem Titeranstieg innerhalb von 10 DPC	3/3 mit klinischen Symptomen (3/3 Appetitverlust; 2/3 starker Durchfall; 1/3 Fieber und eintägiges Erbrechen); 3/3 mit Virusausscheidung (2/3 in hohen Mengen) innerhalb von 9 DPC; 3/3 mit signifikantem Titeranstieg innerhalb von 10 DPC	<b>POVEY et al., 1983</b>
mit CPV-2 (10 <sup>5.1</sup> GKID <sub>50</sub> ) 64 W nach Impfung oral (begleitet von Futterentzug)	5 SPF Misch- linge	1 konformer Hund	Erstimpfung mit 8 bis 12 W, Wiederholungs- impfung im Abstand von 2 W (3 × s. c., 2 × i. m.)	inaktivierter, adjuvanter CPV- 2-Impfstoff	4/5 komplett geschützt; 1/5 mit transientem Fieber; 1/5 mit Virusausscheidung in hoher Menge; 0/5 mit PAT > 80 (im HAH) vor Challenge; 1/5 mit signifikantem Titeranstieg innerhalb von 10 DPC	1/1 mit transientem Fieber; 1/1 mit Virusausscheidung in hoher Menge; 1/1 mit signifikantem Titeranstieg innerhalb von 10 DPC	<b>POVEY et al., 1983</b>

**Fortsetzung Tabelle 3:**

Belastungsversuch (Challenge)	Hundepopulation (jeweils ohne CPV-Antikörper und in Isolation gehalten)		CPV-Impfung		Ergebnis (Klinik, Virusausscheidung, Leukozytenmessung, Antikörpermessung)		Publikation
	Impflinge	Kontrollhunde	Protokoll	Vakzine	Geimpfte Hunde	Kontrollhunde	
mit CPV-2b (10 <sup>4.1</sup> GKID <sub>50</sub> ), 55,1 M nach Impfung oronasal	10 Beaglewelpen	<u>Gruppe A:</u> 4 konforme Hunde  <u>Gruppe B:</u> 5 Welpen	Erstimpfung mit 7 bis 8 W, Wiederholungsimpfung im Abstand von 3 W (s. c.)	Galaxy, Schering-Plough  (Kombinationsimpfstoff mit attenuiertem CPV-2b)	0/10 mit klinischen Symptomen; 0/10 mit Virusausscheidung; 10/10 mit PAT (im SNT) über den gesamten Untersuchungszeitraum, GMT > 2.656 (vor Challenge)	<u>Gruppe A:</u> 2/4 mit sporadischen klinischen Symptomen 5 bis 8 DPC (Inappetenz, Durchfall, Erbrechen, Fieber, Depression); 1/4 mit signifikanter Leukopenie am 7. DPC; 4/4 mit Virusausscheidung 4 bis 8 DPC  <u>Gruppe B:</u> 5/5 mit schweren klinischen Symptomen ab dem 5. DPC (Durchfall, z. T. blutig, Erbrechen, Dehydratation, Fieber, Depression); 5/5 mit hoher Virusausscheidung 4 bis 7 DPC; 3/5 mit Leukopenie am 7. DPC; Mortalitätsrate 100,0 % (1/4 natürlicher Tod und 3/4 Euthanasie am 7. DPC)	<b>ABDEL-MAGID et al., 2004</b>

**Fortsetzung Tabelle 3:**

Belastungs- versuch (Challenge)	Hundepopulation (jeweils ohne CPV- Antikörper und in Isolation gehalten)		CPV-Impfung		Ergebnis (Klinik, Virusausscheidung, Leukozytenmessung, Antikörpermessung)		Publikation
	Impf- linge	Kontroll- hunde	Protokoll	Vakzine	Geimpfte Hunde	Kontrollhunde	
mit CPV-2b (standardi- sierte Dosis) etwa 3 J nach Impfung oral oder intranasal	10 SPF- Welpen	3 konforme Hunde	Erstimpfung mit 6 bis 8 W, Wiederholungs- impfung im Abstand von 3 W ( $5 \times$ s. c., $5 \times$ i. m.)	Duramune Adult, Fort Dodge Animal Health  (Kombinations- impfstoff mit attenuiertem CPV, nicht näher deklariert)	7/10 mit transienter Anorexie und Dehydratation 0 bis 14 DPC, 2/10 mit einmaligem Erbrechen; insgesamt aber 10/10 aktiv und gesund; 0/10 mit Leukopenie; 1/10 mit milder Virusausscheidung am 8. DPC (nach s.-c.-Applikation); PAT (im SNT) vor Challenge mit GMT = 15.826 (s.-c.-Applikation) und GMT = 8.481 (i.-m.-Applikation)	3/3 mit schweren klinischen Symptomen 2 bis 13 DPC (Anorexie, Durchfall, z. T. blutig, Erbrechen, Dehydratation, Depression, Gewichtsverlust); 2/3 mit Leukopenie 1 bis 3 DPC; 3/3 mit mittlerer bis hoher Virusausscheidung 4 bis 9 DPC; 3/3 mit signifikantem Titeranstieg innerhalb von 14 DPC	<b>GILL et al., 2004</b>
38 M nach Impfung; k. A. zu eingesetz- tem Virus und Dosis	23 Welpen	6 konforme Hunde	Erstimpfung mit 7 W, Wiederholungs- impfung mit 11 W	Continuum DAPP, Intervet  (Kombinations- impfstoff mit attenuiertem CPV, nicht näher deklariert)	8/23 an einzelnen Tagen mit transientem Durchfall oder Erbrechen, was nicht mit Challenge in Verbindung gebracht wurde; 0/23 mit Lymphopenie; 0/23 mit Virusausscheidung; PAT (im HAH) vor Challenge (36 M nach Impfung) mit GMT = 237	6/6 mit schweren klinischen Symptomen; 6/6 mit Lymphopenie; 6/6 mit Virusausscheidung; Mortalitätsrate 33,3 %	<b>GORE et al., 2005</b>



### Fortsetzung Tabelle 3:

Belastungs- versuch (Challenge)	Hundepopulation (jeweils ohne CPV- Antikörper und in Isolation gehalten)		CPV-Impfung		Ergebnis (Klinik, Virusausscheidung, Leukozytenmessung, Antikörpermessung)		Publikation
	Impf- linge	Kontroll- hunde	Protokoll	Vakzine	Geimpfte Hunde	Kontrollhunde	
mit CPV-2b (2x 10 <sup>6.3</sup> GKID <sub>50</sub> ), 1 J nach Impfung oronasal	5 Beagle- welpen	2 konforme Hunde	Erstimpfung im Alter von 6 W, Wiederholungs- impfung im Abstand von 3 W (s. c.)	experimenteller Impfstoff DHPPi/L4R  (Kombinations- impfstoff mit attenuiertem CPV-2b)	0/5 mit klinischen Symptomen; 0/5 mit Virusausscheidung (in der VI); 5/5 mit Titerabfall über den Zeitraum von 12 M (maximaler Titer 28 Tage nach der Zweitimpfung) und anamnestischer Immunantwort innerhalb von 14 DPC	0/2 mit klinischen Symptomen; im Vergleich zu geimpften Hunden höhere Virusausscheidung (im HA)	<b>WILSON et al., 2014a</b>

%: Prozent, ×: mal, >: Vergleichszeichen: größer als, CPV: canines Parvovirus, CPV-2: canines Parvovirus-2, CPV-2b: canines Parvovirus-2b, DPC: day(s) post challenge (Tag(e) nach Infektionsversuch), et al.: et alii (und andere), GMT: geometrischer Mitteltiter, GKID<sub>50</sub>: Gewebekultur-infektiöse Dosis 50 %, HA: Hämagglutinationstest, HAH: Hämagglutinationshemmtest, i. m.: intramuskulär, J: Jahr(e), k. A.: keine Angabe, ml: Milliliter, M: Monat(e), PAT: protective antibody titre (protektiver Antikörpertiter), s. c.: subkutan, SNT: Serumneutralisationstest, SPF: spezifisch pathogenfrei, T: Tag(e), VI: Virusisolierung, W: Woche(n), z. T.: zum Teil.

Trotz anfänglicher Sicherheitsbedenken (JOHNSON & SPRADBROW, 1979; MAYR et al., 1984; MAYR, 1989; SIEGL, 2012) setzten sich homologe MLV in Hinblick auf Effektivität und DOI gegenüber Impfstoffen aus inaktiviertem Virus durch (CARMICHAEL, 1997; APPEL, 1999; TRUYEN, 2000; FORD, 2001a; SCHULTZ, 2006; GREENE & LEVY, 2012; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017). Inaktivierte CPV-Vakzinen schützten in Infektionsexperimenten einige Monate vor einer klinischen Erkrankung (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a; POVEY et al., 1983), eine Infektion und Transmission von CPV nach Challenge wurde aber nur eingeschränkt unterbunden (EUGSTER, 1980; POVEY, 1982; CARMICHAEL, 1997, 1999). Auch in der Kinetik der humoralen Immunantwort unterscheiden sich MLV und Impfstoffe aus inaktiviertem Virus deutlich. Inaktivierte Impfstoffe führen zu niedrigeren und kurzlebigeren Titern. Allerdings kann die Immunantwort durch einen höheren Antigengehalt (EUGSTER, 1980; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a) oder Adjuvantien (POVEY, 1982) verbessert werden. So konnte ein doppel-adjuvanter inaktivierter Impfstoff innerhalb von fünf Tagen Antikörper gegen CPV induzieren; zugleich waren die Titer höher als nach Impfung mit einer einfach-adjuvanten inaktivierten CPV-Vakzine (POVEY, 1982). Dagegen konnte in den umfangreichen Untersuchungen von POLLOCK und CARMICHAEL zur Reaktion von Hunden auf inaktivierte CPV- und FPV-Vakzinen die humorale Immunantwort und die Schutzwirkung durch den Zusatz von Aluminiumhydroxid nicht verlängert werden (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a). Auch die Methode, mit der das Virus inaktiviert wird, kann die Immunogenität der Impfstoffe beeinflussen. So fanden POLLOCK und CARMICHAEL, dass eine Inaktivierung mit  $\beta$ -Propiolacton die Antigenität der Impfstoffe besser bewahren konnte als eine Inaktivierung mit Formalin (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a). Mitunter scheinen auch monovalente Impfstoffe höhere Titer zu induzieren als Kombinationsimpfstoffe (POVEY, 1982). Hierzu finden sich allerdings konträre Angaben in der Literatur. Zumindest bei CPV-MLV konnte die Befürchtung, dass eine Kombination mit anderen Impfstoffkomponenten, wie mit caninem Staupevirus (canine distemper virus (CDV)) oder caninem Adenovirus-2 (CAV-2), zu einer geringeren Antikörperentwicklung führt, schon frühzeitig widerlegt werden (CARMICHAEL et al., 1983). In Untersuchungen aus den 1980er Jahren waren maximale Antikörper bei Impfung mit inaktivierten CPV-Vakzinen innerhalb von einer bis zu vier Wochen zu beobachten (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a; POVEY, 1982;

POVEY et al., 1983). Dabei trat bei einer Boosterimpfung eine gedächtnisähnliche Immunantwort auf, jedoch fielen die Antikörper nach jeder Impfung exponentiell mit einer Halbwertszeit von etwa zehn Tagen ab (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a). So konnten bereits nach acht bis 16 Wochen nur mehr sehr niedrige Titer (z. T. an der Nachweisgrenze) detektiert werden; nachfolgend blieben die Antikörper über 20 bis 64 Wochen weitgehend konstant (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a; POVEY et al., 1983). Studien, die die Persistenz von Antikörpern nach Impfung mit Vakzinen aus inaktiviertem CPV über einen längeren Zeitraum untersuchten, konnten nachweisen, dass eine signifikante Zahl an Hunden bereits ein bis zwei Jahre nach der Impfung nicht mehr geschützt war. So hatten in einer schwedischen Untersuchung weniger als die Hälfte der Hunde, die mit verschiedenen Impfstoffen aus inaktiviertem Virus (wahrscheinlich überwiegend FPV-Vakzinen) geimpft worden waren, HAH-Titer  $\geq 80$ . Die 206 Hunde waren im Rahmen einer nationalen Befragung von Hundebesitzern zum Thema Impfungen zufällig ausgewählt worden und der Impfabstand war mit  $<$  sechs Monaten bis  $>$  drei Jahren angegeben. Es zeigte sich, dass Hunde mit längerem Impfabstand durchschnittlich häufiger keine CPV-Antikörpertiter  $\geq 80$  aufwiesen; nur 16 % der Hunde (5/32) behielten Antikörpertiter  $\geq 80$  bei einem Impfabstand von mehr als drei Jahren (OLSON et al., 1988). Eine nachfolgende Untersuchung belegte diesbezüglich signifikante Unterschiede zwischen MLV und Impfstoffen aus inaktiviertem Virus. Von 20 Hunden, die zuletzt mit Impfstoffen aus inaktiviertem Virus geimpft worden waren, hatten nur 69 % CPV-HAH-Titer  $\geq 80$ ; dagegen lag die Prävalenz von Antikörpertitern  $\geq 80$  bei 137 Hunden, die MLV erhalten hatten, bei 90 % (OLSON et al., 1996). Davon abgesehen gibt es über die DOI von Impfstoffen aus inaktiviertem Virus nur wenig Informationen, da sie von den großen Impfstoffherstellern schon nicht mehr produziert werden (SCHULTZ, 2006). Es wird aber von einer DOI von mindestens drei Jahren ausgegangen (DAY et al., 2016).

Im Gegensatz zu Impfstoffen aus inaktiviertem Virus behalten MLV die Fähigkeit zur Replikation und stimulieren eine Immunantwort, die einer natürlichen Infektion nahe kommt (SYKES, 2014a; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017). Sie werden heute für die meisten Hunde empfohlen (APPEL, 1999; CARMICHAEL, 1999; FORD, 2001a; GREENE et al., 2001; DAY et al., 2016; FORD et al., 2017). Schon früh gab es Hinweise, dass MLV einen schnellen und zugleich langjährigen Schutz

vermitteln können (CARMICHAEL, 1997; SCHULTZ, 1999, 2006). Dabei wird die Stärke der Immunantwort nach CPV-MLV-Impfung etwa vier bis fünfmal höher eingeschätzt als die nach Applikation heterologer oder inaktivierter Vakzinen (CARMICHAEL et al., 1981a). Erste experimentelle Studien zeigten, dass MLV bei über 99 % der Hunde bereits nach zwei Tagen messbare Antikörper gegen CPV (HAH-Titer 40 bis 80) induzierten und innerhalb von zehn bis 14 Tagen ein signifikanter Titeranstieg (HAH-Titer bis  $> 10.240$ ) erreicht wurde. Danach fallen die Antikörper ab, etwa zweifach innerhalb der ersten zwölf Monate. HAH-Titer  $\geq 80$  waren über mindestens zwei Jahre nachweisbar und die Hunde waren im Infektionsversuch geschützt und entwickelten keine Virusausscheidung mit dem Kot (CARMICHAEL et al., 1983). Auch andere Autoren belegten schon früh die Persistenz spezifischer Antikörper nach MLV-Impfung über mindestens zwei Jahre (KAHN et al., 1983; COOPER et al., 1991). Allerdings gab es bei den verschiedenen kommerziellen Produkten zunächst erhebliche Unterschiede. So konnte CARMICHAEL bei Untersuchungen über die Jahre 1987 bis 1990 feststellen, dass die HAH-Titer nach Anwendung verschiedener kommerzieller MLV innerhalb von zwei bis 2,5 Jahren auf ein Niveau kleiner oder gleich ( $\leq$ ) 10 abgefallen waren. Viele der damaligen Impfstoffe wurden allerdings zwischenzeitlich durch verbesserte Produkte einer „neueren Generation“ ersetzt (CARMICHAEL, 1999). Dies kommt auch deren Fähigkeit zugute, MDA-Titer zu überwinden (LARSON & SCHULTZ, 1997; MCCAW et al., 1997). Kontrollierte Langzeitstudien bestätigen für gut grundimmunisierte Hunde eine lange Persistenz von Antikörper gegen CPV. So konnten SCHULTZ et al. Antikörper noch neun Jahre (in virusfreier Umgebung) oder zehn Jahre (in nicht-virusfreier Umgebung) nach Impfung mit verschiedenen kommerziellen MLV nachweisen (SCHULTZ, 2006; SCHULTZ et al., 2010). Die Immunität wurde zusätzlich durch Belastungsversuche für mindestens sieben Jahre bestätigt (SCHULTZ, 1999, 2006). GORE et al. zeigten in Infektionsexperimenten, dass eine MLV-Impfung gegen CPV im Welpenalter eine mindestens dreijährige Protektion vermitteln kann (GORE et al., 2005). Auch ABDELMAGID et al. konnten für die Erstimpfung von Welpen mit einem kommerziellen Kombinationsimpfstoff eine Immunität von mindestens vier Jahren durch Challengeversuch und begleitende Antikörpermessungen belegen. Dabei waren selbst nach über 55 Monaten noch hohe HAH-Titer (geometrischer Mitteltiter (GMT) = 844) vorhanden (ABDELMAGID et al., 2004). CARMICHAEL konnte nachweisen, dass fünf

Hunde, die mit einem kommerziellen Kombinations-MLV geimpft und in einer SPF-Kolonie gehalten wurden, noch nach mehr als 6,5 Jahren HAH-Titer  $> 320$  aufwiesen (CARMICHAEL, 1999). Für den noch heute verwendeten Cornell-Stamm CPV-780916 sind bei dreizehn Hunden HAH-Titer  $> 320$  über einen Zeitraum von mindestens sechs Jahren dokumentiert (APPEL et al., 1980b). Aufgrund dieser Datenlage sind aus immunologischer Sicht jährliche Wiederholungsimpfungen bei adulten Hunden nicht indiziert. Jedoch kann die DOI im Einzelfall variieren (COYNE et al., 2001; PATEL & HELDENS, 2009; HEAYNS, 2012; VILA NOVA et al., 2018), sodass führende Expertengruppen nach Abschluss der Grundimmunisierung gegenwärtig ein Drei-Jahres-Intervall für Wiederholungsimpfungen empfehlen; alternativ kann auch eine Antikörpermessung zur Impfentscheidung herangezogen werden (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2017a, 2019) (siehe auch 2.2.). Dieser selektive Ansatz findet durch die Verfügbarkeit geeigneter Produkte zur patientennahen Schnelldiagnostik (point-of-care-testing (POCT)) zunehmend Bedeutung für die Praxis (HEAYNS & BAUGH, 2012) und wird insbesondere bei Hunden mit vorberichtlichen Impfnebenwirkungen (MCCAW et al., 1998; DAY et al., 2016) oder erhöhtem Risiko für unerwünschte immunologische Reaktionen auf die Impfung (DODDS, 2001) empfohlen.

Es ist zu bedenken, dass Hunde in ihrer natürlichen Umgebung selbst durch weniger effektive MLV oder Impfstoffe aus inaktiviertem Virus partiell geschützt sein können und ihr Immunschutz durch Exposition zu CPV-Feldvirus kontinuierlich geboostert wird (GREENE et al., 2001; ABDELMAGID et al., 2004; GREENE & LEVY, 2012). So wurden einige Antikörperuntersuchungen auch an geimpften Hunden in Privatbesitz oder in kommerziellen Zwingern durchgeführt. Hierbei konnte ebenfalls eine langjährige Persistenz von Antikörpern gegen CPV bestätigt werden (TWARK & DODDS, 2000; BÖHM et al., 2004; MOUZIN et al., 2004; ALMENDRA et al., 2005; KANELLOS et al., 2006c; SCHODER et al., 2006; LARSON & SCHULTZ, 2007; MITCHELL et al., 2012; KILLEY et al., 2018). Weiter konnte gezeigt werden, dass eine Auffrischungsimpfung bei Hunden, die bereits Antikörper gegen CPV besitzen, häufig nicht den gewünschten Boostereffekt bewirkt (MITCHELL et al., 2012; TAGUCHI et al., 2012a). Wenngleich mit zunehmendem Abstand zur letzten Impfung ein Abfall des GMT zu verzeichnen ist, ist dieser Effekt jedoch im Fall von CPV nur mäßig ausgeprägt

(SCHODER et al., 2006). Allerdings gibt es individuelle Unterschiede hinsichtlich der Langlebigkeit der spezifischen Antikörper, was in der Aktivität des Immunsystems eines einzelnen Hundes begründet sein kann (VILA NOVA et al., 2018).

## **1.2. Antikörperprävalenz**

Der erste Nachweis von Antikörpern gegen CPV bei Hunden ist mit dem Auftreten der ersten dokumentierten Erkrankungen in den Jahren 1978 und 1979 korreliert (VELLA & KETTERIDGE, 1991; SIEGL, 2012). Zumindest trifft dies für die Populationen in Nordamerika (BLACK et al., 1979; APPEL et al., 1980b; CARMICHAEL et al., 1980; HELFER-BAKER et al., 1980; MULVEY et al., 1980; MEUNIER et al., 1981; CARMAN & POVEY, 1984), Neuseeland (JONES et al., 1982), Australien (KELLY, 1978; SMITH et al., 1980a; WALKER et al., 1980), Japan (AJIKI et al., 1980; AZETAKA et al., 1981; MOHRI et al., 1982) und Großbritannien (MCCANDLISH et al., 1979) zu. In einigen retrospektiven europäischen Untersuchungen konnten Antikörper gegen CPV jedoch bereits lange vor dem Auftreten der ersten Krankheitsfälle detektiert werden. So gelang KOPTOPOULOS et al. der erste Antikörpernachweis in 3/28 Asservaten aus dem Jahr 1974, die von Hunden aus dem Gebiet um Thessaloniki stammten (KOPTOPOULOS et al., 1986). Auch in Belgien wurden in 3/56 Serumproben, die zwischen Juni 1976 und Juni 1977 von klinisch gesunden, adulten Hunden gesammelt worden waren, hohe HAH-Titer  $\geq 1.280$  nachgewiesen (SCHWERS et al., 1979). Und in Frankreich bestätigten PETERMANN und CHAPPUIS das Vorhandensein von Antikörpern gegen CPV bei klinisch gesunden Hunden schon zwei Jahre vor dem ersten Erkrankungsfall im Oktober 1979. Während asservierte Seren aus den Jahren 1975 und 1976 noch keine Antikörper gegen CPV enthielten, wurden 20 % der Proben aus dem Jahr 1977 und 36 % der Proben aus dem Jahr 1978 positiv getestet (PETERMANN & CHAPPUIS, 1981). In den Niederlanden ist der erste Nachweis von Antikörpern gegen CPV auf November 1977 (OSTERHAUS et al., 1980a) und in Dänemark auf den Zeitraum zwischen Januar bis Juni 1978 (HAVE & ANDERSEN, 1982) datiert. Die ersten Antikörpernachweise aus der Schweiz finden sich in einer Untersuchung der Universitätstierklinik Zürich, die die ersten 50 Fälle von caniner Parvovirose zwischen Oktober 1978 und April 1980 analysierte (FLÜCKIGER, 1980). In der Bundesrepublik Deutschland sind Antikörper gegen CPV in Zusammenhang mit

akuten Magen-Darm-Erkrankungen von Hunden ab dem Herbst 1979 beschrieben (HOFFMANN et al., 1980).

Bis heute untersuchten zahlreiche Studien die Prävalenz von Antikörpern gegen CPV bei Hunden. Eine Zusammenfassung der wichtigsten Studien der letzten 20 Jahre ist in Tabelle 4 dargestellt (Tabelle 4).

Wenngleich aus verschiedenen geographischen Regionen und Populationen mitunter deutlich voneinander abweichende Prävalenzangaben (13 bis 100 %) berichtet werden, so ist generell eine hohe Prävalenz von CPV-Antikörpern festzustellen. Dies ist zum einen auf die Verbreitung des Erregers über natürliche Infektionen, aber auch auf den Erfolg von Impfmaßnahmen zurückzuführen (RIMMELZWAAN et al., 1991; MARTINOD, 1999; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; SYKES, 2014b; GAGNON et al., 2016). In beiden Fällen können langlebige Serumantikörper gegen CPV induziert werden (siehe auch 1.1.3. und 1.1.4.). Da CPV nahezu universell in der Umwelt verbreitet ist, kommen die meisten Hunde im Laufe ihres Lebens mit dem Erreger in Kontakt und entwickeln spezifische Antikörper (BÖHM et al., 2004; PARRISH, 2017; VILA NOVA et al., 2018). So wird dem natürlichen Boostereffekt eine zentrale Bedeutung für die Aufrechterhaltung des humoralen Immunschutzes innerhalb der Population beigemessen (MARTINOD, 1999). Trotzdem wird nicht in allen Untersuchungen eine Prävalenz von 70 % erreicht. Diese Kennzahl gilt im Allgemeinen als Schwellenwert für eine solide Herdenimmunität (EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b; DAY et al., 2016; STIKO VET AM FLI, 2019). Manche Autoren gehen davon aus, dass im Fall von CPV, welches sehr resistent gegenüber Umwelteinflüssen ist, mindestens ein Jahr infektiös bleibt und zugleich in großen Mengen ausgeschieden wird, der Prozentsatz geschützter Tiere noch sehr viel höher sein muss, um Epidemien in einer Population zu verhindern (GREENE & LEVY, 2012). Gleichzeitig ist zu bedenken, dass in dem Maße, in dem eine erworbene Immunität durch vorangegangene Infektionen oder Impfungen vor einer erneuten Infektion und Exposition schützt, auch der natürliche Boostereffekt innerhalb der Population abnimmt, was wiederum einen Rückgang der Herdenimmunität zur Folge haben kann (ROUDERFER et al., 1994).

**Tabelle 4: Studien zur Prävalenz von Antikörpern gegen canine Parvoviren aus den letzten 20 Jahren**

Land	Hundepopulation					Antikörper- prävalenz	Cut-off (Messmethode)	Publikation
	Anzahl	Alter	Haltung	Gesundheits- zustand	Impfstatus gegen CPV			
USA	122	adult	in Privatbesitz	gesund	zuletzt geimpft vor <b>0,7 bis 4,6 J</b>  0,7 bis 1 J 1,3 bis 2,2 J 2,2 bis 4,6 J	<b>73,0 % (89/122)</b>  73,0 % (54/74) 71,1 % (27/38) 80,0 % (8/10)	80 (HAH)	<b>MCCAW et al., 1998</b>
USA und Kanada	1.441	6 W bis 17 J	in Privatbesitz	gesund	nur von 468 (32,5 %) Hunden bekannt  zuletzt geimpft vor 1 bis 7 J 2 bis 7 J	<b>95,1 % (1.370/1.441)</b>  94,8 % (401/423) 93,7 % (133/142)	5 (IFT)	<b>TWARK &amp; DODDS, 2000</b>
Brasilien	23	3 bis 17 M	in Privatbesitz	k. A.	k. A.	<b>13,0 % (3/23)</b>	10 (HAH)	<b>COURTE- NAY et al., 2001</b>
UK	143	3 bis 17 J	in Privatbesitz	gesund	zuletzt geimpft vor <b>&gt; 3 bis 15 J,</b> 3 Hunde nicht geimpft  > 3 bis 4 J > 4 bis 5 J > 5 bis 6 J > 6 bis 7 J > 7 bis 9 J > 9 bis 15 J	<b>94,4 % (135/143)</b>  92,7 % (38/41) 91,2 % (31/34) 100,0 % (16/16) 100,0 % (16/16) 88,9 % (16/18) 100,0 % (18/18)	128 (HAH)	<b>BÖHM et al., 2004</b>



**Fortsetzung Tabelle 4:**

Land	Hundepopulation					Antikörper- prävalenz	Cut-off (Messmethode)	Publikation
	Anzahl	Alter	Haltung	Gesundheits- zustand	Impfstatus gegen CPV			
Bolivien	26	ab 5 M	in Privatbesitz, z. T. jagdlich genutzt	k. A.	wahrscheinlich nicht geimpft	<b>92,3 % (24/26)</b>	10 (HAH)	<b>FIGIELLO et al., 2004</b>
Portugal	556	adult	in Privatbesitz	k. A.	zuletzt geimpft vor <b>&lt; 1 bis mind. 7 J</b>  < 1 J 1 bis 3 J >3 bis 5 J > 5 bis 7 J > 7 J	<b>98,2 % (546/556)</b>  98,2 % (377/384) 98,6 % (146/147) 92,3 % (12/13) 100,0 % (6/6) 100,0 % (5/5)	80 (HAH)	<b>ALMENDRA et al., 2005</b>
Bolivien	79	ab 5 M	in Privatbesitz, überwiegend (mind. 86,0 %) jagdlich genutzt	k. A.	wahrscheinlich nicht geimpft	<b>94,9 % (75/79)</b>	10 (HAH)	<b>FIGIELLO et al., 2006</b>
Schweiz und Deutschland (ca. 33 %)	257	ab 18 M	in Privatbesitz	gesund	zuletzt geimpft vor <b>1 bis 7 J</b>  1 J > 1 bis 7 J	<b>66,1 % (170/257)</b>  77,3 % (34/44) 63,8 % (136/213)	80 (HAH)	<b>OTTIGER et al., 2006</b>
Österreich	147	16 M bis 17 J	in Privatbesitz	gesund	zuletzt geimpft vor <b>1 bis 98 M</b>  1 bis 24 M > 24 bis 98 M	<b>99,3 % (146/147)</b>  100,0 % 126/126) 95,2 % (20/21)	80 (HAH)	<b>SCHODER et al., 2006</b>

**Fortsetzung Tabelle 4:**

Land	Hundepopulation					Antikörper- prävalenz	Cut-off (Messmethode)	Publikation
	Anzahl	Alter	Haltung	Gesundheits- zustand	Impfstatus gegen CPV			
Israel	158	adult	in Privatbesitz	k. A.	zuletzt geimpft vor ≥ 1 J  ≥ 1 bis 1,5 J > 1,5 bis 2 J > 2 bis 2,5 J > 2,5 bis 3 J > 3 bis 3,5 J > 3,5 bis 4 J > 4 J	<b>84,0 % (/158)</b>  80,3 % (53/66) 83,9 % (26/31) 84,6 % (11/13) 100,0 % (12/12) 77,8 % (7/9) 80,0 % (4/5) 90,9 % (20/22)	Score ≥ 3/6 (ELISA-Kit, ImmunoComb Canine VacciCheck®, Biogal – Galed Labs, Israel, korreliert mit HAH-Titer ≥ 80)	<b>WANER et al., 2006</b>
Italien	117	2 M bis 11 J	freilebende Schutz- oder Hütehunde	k. A.	nicht geimpft	<b>82,9 % (97/117)</b>	k. A. (ELISA-Kit, INgezim Parvo Canino 15.CPV.K.1, Ingenasa, Spanien)	<b>CORRAIN et al., 2007</b>
Variabel (Teilnehmer beim Iditarod Hundeschlitten- rennen)	194	2 bis 9 J	Schlittenhunde aus 18 Zwingern	gesund	zuletzt geimpft vor 19 bis 286 T	<b>96,9 % (188/194)</b>	256 (SNT)	<b>BANSE et al., 2008</b>
Bolivien	40	ab 4 M	freilebende Dorfhunde, in menschlicher Obhut	k. A.	nicht geimpft	<b>85,0 % (34/40)</b>	10 (HAH)	<b>BRONSON et al., 2008</b>

**Fortsetzung Tabelle 4:**

Land	Hundepopulation					Antikörper- prävalenz	Cut-off (Messmethode)	Publikation
	Anzahl	Alter	Haltung	Gesundheits- zustand	Impfstatus gegen CPV			
Isabela Island, Galapagos	95	ab 6 M	freilebende Hunde, in menschlicher Obhut, vorgestellt im Rahmen eines Kastrationsprojekts	einige Hunde mit hämorrhagischer Gastroenteritis	nicht geimpft (Impfverbot)	<b>100,0 % (95/95)</b>	k. A. (HAH)	<b>LEVY et al., 2008</b>
Brasilien	70	ab 1 J	weitestgehend freilebende Hunde, in menschlicher Obhut	k. A.	nicht geimpft	<b>58,6 % (41/70)</b>	80 (HAH)	<b>CURI et al., 2010</b>
USA	431	2 M bis 14 J	überwiegend Streuner (ca. 67 %), bei Aufnahme ins Tierheim	weitestgehend gesund (91,6 %)	unbekannt	<b>67,1 % (289/431)</b>	80 (HAH)	<b>LECHNER et al., 2010</b>
Südkorea	405	ca. 0,6 M bis 5 J	Streuner aus 18 verschiedenen Auffangstationen	k. A.	unbekannt	<b>93,8 % (380/405)</b>	10 (HAH)	<b>YANG et al., 2010</b>
Japan	1.031	2 bis 18 J	in Privatbesitz	gesund	zuletzt geimpft vor 11 bis 13 M	<b>86,1 % (888/1.031)</b>	160 (HAH)	<b>TAGUCHI et al., 2011</b>
USA	51	4 M bis 2 J	bei Aufnahme aus städtischem Tierheim in Tierheim mit garantierter Vermittlung	gesund	zuletzt geimpft vor 5 T (im städtischen Tierheim)	<b>68,6 % (35/51)</b>	entsprechend Herstellerangabe (ELISA-Kit, TiterCHEK® CDV/CPV , Synbiotics Corp., USA, korreliert mit HAH-Titer 80)	<b>LITSTER et al., 2012a</b>

**Fortsetzung Tabelle 4:**

Land	Hundepopulation					Antikörper- prävalenz	Cut-off (Messmethode)	Publikation
	Anzahl	Alter	Haltung	Gesundheits- zustand	Impfstatus gegen CPV			
USA	51	4 M bis 12 J	bei Aufnahme in Tierheim mit begrenzter Aufnahmekapazität	gesund	keine bekannte Impfhistorie	<b>84,3 % (43/51)</b>	entsprechend Herstellerangabe (ELISA-Kit, TiterCHEK® CDV/CPV, Synbiotics Corp., USA, korreliert mit HAH-Titer 80)	<b>LITSTER et al., 2012a</b>
Dänemark	322	2 M bis 13,3 J	in Privatbesitz	z. T. Haut-/Fell- Probleme, Gewichtsverlust	geimpft, keine weiteren Angaben	<b>88,5 % (285/322)</b>	Score $\geq 3/6$ (ELISA-Kit, ImmunoComb Canine VacciCheck®, Biogal – Galed Labs, Israel, korreliert mit HAH-Titer $\geq 80$ )	<b>LUND et al., 2012</b>
Australien	235	2 J bis 19 J	in Privatbesitz	gesund	zuletzt geimpft vor 1,5 bis 9 J	<b>97,4 % (229/235)</b>	10 (HAH)	<b>MITCHELL et al., 2012</b>
Uganda	92	ab 4 M	freilebende Jagd-, Hüte- oder Schutzhunde, vorgestellt im Rahmen einer Tollwut- Impfkampagne	k. A.	nicht geimpft	<b>65,2 % (60/92)</b>	k. A. (ELISA-Kit, INGezim Parvo Canino 15.CPV.K.1, Ingenasa, Spanien)	<b>MILLÁN et al., 2013</b>

**Fortsetzung Tabelle 4:**

Land	Hundepopulation					Antikörper- prävalenz	Cut-off (Messmethode)	Publikation
	Anzahl	Alter	Haltung	Gesundheits- zustand	Impfstatus gegen CPV			
Chile	267	k. A.	Haushunde	k. A.	nicht geimpft	<b>76,0 % (203/267)</b>	k. A. (HAH)	<b>ACOSTA- JAMETT et al., 2014</b>
Indien	146	alle Altersgruppen	freilebende Dorfhunde, nur z. T. in menschlicher Obhut	k. A.	nicht geimpft	<b>88,4 % (129/146)</b>	Score $\geq 1/6$ (ELISA-Kit, ImmunoComb Canine VacciCheck <sup>®</sup> , Biogal – Galed Labs, Israel)	<b>BELSARE et al., 2014</b>
Maio, Kap Verde	88	6 M bis mind. 7 J	Streuner, vorgestellt im Rahmen eines Gesundheits- und Kastrationsprojekts	weitestgehend klinisch gesund	weitestgehend nicht bekannt	<b>71,6 % (63/88)</b>	>100 ELISA- Einheiten (ELISA-Kit, INgezim Parvo Canino 15.CPV.K.1, Ingenasa, Spanien)	<b>CASTAN- HEIRA et al., 2014</b>
Simbabwe	225	k. A.	freilebende Dorfhunde	k. A.	nicht geimpft	<b>84,9 % (191/225)</b>	entsprechend Herstellerangabe (ELISA-Kit, ImmunoComb Canine VacciCheck <sup>®</sup> , Biogal – Galed Labs, Israel)	<b>MCREE et al., 2014</b>

**Fortsetzung Tabelle 4:**

Land	Hundepopulation					Antikörper- prävalenz	Cut-off (Messmethode)	Publikation
	Anzahl	Alter	Haltung	Gesundheits- zustand	Impfstatus gegen CPV			
Argentinien	174	4 M bis mind. 5 J	freilebende Haushunde, z. T. genutzt als Jagd- oder Hütehunde	k. A.	weitestgehend nicht geimpft, allerdings Impfhistorie nur von 99 (56,9 %) Hunden bekannt	<b>94,3 % (164/174)</b>	10 (HAH)	<b>OROZCO et al., 2014</b>
Chile	501	alle Altersgruppen	Haushunde, z. T. freilebend oder genutzt als Jagd-, Hüte- oder Herdenschutz-Hunde	k. A.	nicht geimpft	<b>78,0 % (391/501)</b>	entsprechend Herstellerangabe (ELISA-Kit, ImmunoComb Canine VacciCheck®, Biogal – Galed Labs, Israel)	<b>ACOSTA-JAMETT et al., 2015</b>
Brasilien	320	3 M bis 18 J	überwiegend freilebende Hunde, in menschlicher Obhut	weitestgehend klinisch gesund	301 (94,1 %) Hunde nicht geimpft	<b>97,2 % (311/320)</b>	20 (HAH)	<b>CURI et al., 2016</b>
Santa Cruz, Galapagos	88	2 M bis 14 J	in Privatbesitz, z. T. freilebende Haushunde	k. A.	nicht bekannt, allerdings Impfverbot auf Galapagos	<b>88,6 % (78/88)</b>	Score $\geq 3/6$ (ELISA-Kit, ImmunoComb Canine VacciCheck®, Biogal – Galed Labs, Israel, korreliert mit HAH-Titer $\geq 80$ )	<b>DIAZ et al., 2016</b>

**Fortsetzung Tabelle 4:**

Land	Hundepopulation					Antikörper- prävalenz	Cut-off (Messmethode)	Publikation
	Anzahl	Alter	Haltung	Gesundheits- zustand	Impfstatus gegen CPV			
Sambia	174	alle Altersgruppen	in Privatbesitz	k. A.	59 (33,9 %) Hunde nicht geimpft	<b>100,0 % (174/174)</b>	Cut-off nicht definiert, aber alle Hunde mit Titer $\geq$ 160 (HAH)	<b>SAASA et al., 2016</b>
Sambia	56	alle Altersgruppen	freilebende Hunde	k. A.	nicht geimpft	<b>100,0 % (56/56)</b>	Cut-off nicht definiert, aber alle Hunde mit Titer $\geq$ 160 (HAH)	<b>SAASA et al., 2016</b>
Korea	105	ab 3 M	bei Aufnahme ins Tierheim	gesund	nicht bekannt	<b>84,8 % (89/105)</b>	80 (HAH)	<b>KIM et al., 2017</b>
USA	80	3 M bis 16,7 J	in Privatbesitz	Intensivpatienten, davon ein Hund mit nachgewiesener Parvovirose	nur von 69 (86,3 %) Hunden bekannt  < 1 J 1 bis 2 J 2 bis 3 J > 3 J	<b>85,0 % (68/80)</b>  95,7 % (22/23) 93,8 % (15/16) 87,5 % (14/16) 64,3 % (9/14)	80 (HAH)	<b>MAHON et al., 2017</b>
UK	486	3 M bis 19 J	in Privatbesitz	weitestgehend klinisch gesund	zuletzt geimpft vor < 1 bis 124 M	<b>98,4 % (478/486)</b>	Score $\geq$ 1/6 (ELISA-Kit, ImmunoComb Canine VacciCheck®, Biogal – Galed Labs, Israel, korreliert mit HAH-Titer $\geq$ 20)	<b>KILLEY et al., 2018</b>

**Fortsetzung Tabelle 4:**

Land	Hundepopulation					Antikörper- prävalenz	Cut-off (Messmethode)	Publikation
	Anzahl	Alter	Haltung	Gesundheits- zustand	Impfstatus gegen CPV			
Korea	78	1 J bis 14 J	militärische Gebrauchshunde	k. A.	regelmäßig geimpft (GI und jährliche Wiederholungs- impfungen)	<b>100,0 % (78/78)</b>	entsprechend Herstellerangabe (ELISA-Kit, INGEZIM Parvo Canino 15.CPV.K.1, Ingenasa, Spanien)	<b>KIM et al., 2018</b>

%: Prozent, ®: registered trademark (registrierte Warenmarke), ™: trademark (anerkannte, aber (noch) nicht registrierte Warenmarke), >: Vergleichszeichen: größer als, ≥: Vergleichszeichen: größer oder gleich als, <: Vergleichszeichen: kleiner als, ca.: circa, CPV: canines Parvovirus, ELISA: enzym-linked immunosorbent assay (enzymgekoppelter Immunadsorptionstest), et al.: et alii (und andere), GI: Grundimmunisierung, HAH: Hämagglutinationshemmtest, IFT: Immunfluoreszenztest, J: Jahr(e), k. A.: keine Angabe, M: Monat(e), mind.: mindestens, SNT: Serumneutralisationstest, T: Tage(n), UK: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland (Vereinigtes Königreich Großbritannien und Nordirland), USA: United States of America (Vereinigte Staaten von Amerika), W: Woche(n), z. T.: zum Teil.



Verschiedene Faktoren scheinen mit der Präsenz von Antikörpern gegen CPV assoziiert zu sein. So können Haltungsform und Lebensstil die Wahrscheinlichkeit einer natürlichen Exposition zu CPV beeinflussen (COYNE et al., 2001). Bei freilebenden Hunden in Chile konnte eine höhere Prävalenz von Antikörpern gegen CPV in städtischen Gebieten detektiert werden als in ländlichen Regionen. Dies wurde mit einem größeren Infektionsdruck aufgrund der höheren Hundedichte und schlechteren hygienischen Bedingungen in Zusammenhang gebracht (ACOSTA-JAMETT et al., 2015). In ländlichen Regionen Brasiliens hatten Hunde, die in räumlich begrenzten Gebieten gehalten wurden, durchschnittlich häufiger Antikörper gegen CPV. Mehr direkter Hundekontakt und eine höhere Umgebungsbelastung wurden auch hier als ursächlich angeführt. Generell haben freilebende Hunde häufig Kontakt zu CPV in der Umwelt (CURI et al., 2016). So zeigten auch 405 ehemalige Streuner, die drei Wochen nach Aufnahme in verschiedene südkoreanische Tierauffangstationen auf Antikörper gegen canines Parvovirus-2a (CPV-2a) getestet wurden, eine sehr hohe Prävalenz von 94 % spezifischer Antikörper. Dabei kann laut den Autoren der Studie die hohe Besatzdichte in den Tierheimen zur schnellen Transmission von CPV beigetragen haben (YANG et al., 2010). Ob Hunde als reine Haushunde, Jagdhunde oder Hüte-/Herdenschutzhunde gehalten wurden, hatte dagegen keinen statistisch signifikanten Effekt auf die Entwicklung von Antikörpern gegen CPV (OROZCO et al., 2014); auch wenn es in manchen Untersuchungen dafür Anhaltspunkte gab (ACOSTA-JAMETT et al., 2015).

Sowohl Geschlecht (TENNANT et al., 1991; MCCAWE et al., 1998; TWARK & DODDS, 2000; ALMENDRA et al., 2005; SCHODER et al., 2006; CORRAIN et al., 2007; LEVY et al., 2008; YANG et al., 2010; TAGUCHI et al., 2011; BELSARE et al., 2014; CASTANHEIRA et al., 2014; OROZCO et al., 2014; SAASA et al., 2016; KIM et al., 2017; KIM et al., 2018) als auch Rasse (TENNANT et al., 1991; MCCAWE et al., 1998; TWARK & DODDS, 2000; ALMENDRA et al., 2005; SCHODER et al., 2006; SAASA et al., 2016; KIM et al., 2017; KILLEY et al., 2018; KIM et al., 2018) sind dagegen nicht mit der Prävalenz von Antikörpern gegen CPV assoziiert. Ebenso hat der Kastrationsstatus keinen signifikanten Einfluss (LECHNER et al., 2010). LUND et al. fanden für Mischlingshunde ein höheres Risiko, keine protektiven Antikörper gegen CPV zu besitzen als für Rassehunde. Auch Hunde mit einem Körpergewicht  $\leq 10$  kg waren

in dieser Studie häufiger ungeschützt als Hunde mit einem Körpergewicht > 30 kg (LUND et al., 2012). Dagegen konnten McCAW et al. bei 122 Hunden keinen Einfluss des Körpergewichts auf die Prävalenz von CPV-Antikörpern  $\geq 80$  ableiten (MCCAWE et al., 1998). Dieses Ergebnis stimmt auch mit dem von SCHODER et al. überein, die bei ihrer Untersuchung an 147 Hunden mit einem Körpergewicht zwischen 1,6 und 56 kg ebenfalls keinen Einfluss des Gewichts auf die Prävalenz von Antikörpern gegen CPV nachweisen konnten (SCHODER et al., 2006). Allerdings wurde in einer japanischen Studie demonstriert, dass die Höhe der humoralen Immunantwort nach MLV-Impfung mit dem Körpergewicht assoziiert ist und kleinere Hunde signifikant höhere CPV-Titer ausbilden (TAGUCHI et al., 2012b).

Der Effekt des Alters auf die Prävalenz von Antikörpern gegen CPV ist noch nicht genau geklärt. Wiederholt konnten höhere Antikörperprävalenzen und -Titer bei jüngeren Hunden detektiert werden (MCCAWE et al., 1998; OTTIGER et al., 2006; SCHODER et al., 2006; TAGUCHI et al., 2011; KIM et al., 2018), was v. a. einer aktiveren Zellteilung und einer generell stärkeren Immunantwort zugeschrieben wurde (TAGUCHI et al., 2011). Auch das Risiko einer natürlichen Exposition zu CPV und damit das Ausmaß des natürlichen Boostereffekts auf die jüngere Population wird besonders hoch eingeschätzt (OTTIGER et al., 2006). Zudem wird diskutiert, dass altersbedingte Veränderungen des Immunsystems, ähnlich wie beim Menschen, ein Ansprechen auf eine Impfung bei älteren Tieren verringern könnten (POVEY & CARMAN, 1997f; COYNE et al., 2001; FERAGLICH & HOROHOF, 2002; PLOWDEN et al., 2004; THIRY & HORZINEK, 2007; GREENE & LEVY, 2012). So fanden beispielsweise ELLIS et al. bei geriatrischen Hunden nach der Impfung signifikant niedrigere CPV-Titer im SNT als bei den ein- bis vierjährigen Tieren (ELLIS et al., 2016). Dabei scheint bei älteren Hunden v. a. die Wahrscheinlichkeit einer adäquaten primären humoralen Immunantwort reduziert zu sein, wohingegen die sekundäre anamnestiche Immunantwort weniger stark durch Alterungsprozesse beeinträchtigt wird; inwiefern dies die Immunitätsdauer nach einer Impfung verändert, ist ungewiss (HOGENSEN & THOMPSON, 2010). SCHODER et al. konnten zeigen, dass die negative Korrelation zwischen Alter und Antikörpertiter unabhängig von der Anzahl vorheriger Impfungen war (SCHODER et al., 2006). Während einige Studien den Einfluss des Alters auf die Prävalenz von CPV-Antikörpern nicht bestätigen

konnten (TENNANT et al., 1991; TWARK & DODDS, 2000; COURTENAY et al., 2001; ALMENDRA et al., 2005; BANSE et al., 2008), wurden in wieder anderen Untersuchungen durchschnittlich häufiger Antikörper gegen CPV bei adulten Hunden nachgewiesen als bei Welpen oder juvenilen Hunden (CORRAIN et al., 2007; LECHNER et al., 2010; YANG et al., 2010; LITSTER et al., 2012a; LUND et al., 2012; BELSARE et al., 2014; CASTANHEIRA et al., 2014; OROZCO et al., 2014; ACOSTA-JAMETT et al., 2015; DIAZ et al., 2016; KIM et al., 2017). So hatten in der Untersuchung von CASTANHEIRA et al. nur 20 % der Hunde unter sechs Monaten (2/10) Antikörper gegen CPV, wohingegen sich der Prozentsatz mit zunehmendem Alter stufenweise erhöhte, auf 57 % (8/14) in der Altersgruppe von sechs Monaten bis einem Jahr, 58 % (14/16) in der Altersgruppe von ein bis zwei Jahren, 85 % (29/34) in der Altersgruppe von zwei bis fünf Jahren, 75 % (6/8) in der Altersgruppe von fünf bis sieben Jahren und 100 % (1/1) in der Altersgruppe von mehr als sieben Jahren. Bei der Studienpopulation handelte es sich um 88 freilebende, weitestgehend ungeimpfte Hunde auf der kapverdischen Insel Maio (CASTANHEIRA et al., 2014). LECHNER et al. fanden bei Hunden, die in ein städtisches Tierheim in Florida aufgenommen wurden, eine signifikant niedrigere Antikörperprävalenz gegen CPV bei Hunden im Alter unter fünf Monaten (23 %, 25/107) im Vergleich zu Hunden im Alter von bis zu zwei Jahren (60 %, 197/328). Dabei hatten Hunde mit Erkrankungen 3,3-mal häufiger Antikörper gegen CPV als Hunde, die zum Zeitpunkt der Aufnahme als gesund eingestuft wurden. Allerdings waren diese Hunde auch signifikant älter ( $2,9 \pm 3,1$  Jahre) als die gesunden Hunde ( $1,7 \pm 1,8$  Jahre). Die Relevanz des Alters konnte auch in der nachfolgenden Multivariatanalyse bestätigt werden: Ein Alter von mindestens einem Jahr begünstigte statistisch signifikant die Präsenz von Antikörpern gegen CPV (LECHNER et al., 2010). Auch in einer Untersuchung an 219 ungeimpften, freilebenden Hunden in Zentralindien wurde bei adulten Hunden eine höhere Prävalenz von Antikörpern gegen CPV gefunden als bei juvenilen Hunden im Alter zwischen fünf und zwölf Monaten (94 % versus 68 %) (BELSARE et al., 2014).

BÖHM et al. konnten zeigen, dass Hunde, deren CPV-Impfung drei oder mehr Jahre zurücklag, signifikant häufiger Antikörper über dem definierten Grenzwert aufwiesen als Hunde, die erst vor zwei Wochen ihre Erstimpfung erhalten hatten (93 % versus 79 %). Zugleich wurden bei zwei von drei ungeimpften Hunden

Antikörper gegen CPV detektiert. Die Autoren brachten dies mit einer Exposition zu CPV in der Umgebung der Hunde in Verbindung (BÖHM et al., 2004). Insbesondere ein Aufenthalt in Umgebungen mit hoher Belastung, z. B. Tierkliniken oder Tierarztpraxen, kann zur natürlichen Boosterung der humoralen Immunität gegen CPV beitragen. HENRY et al. entdeckten, dass einige Hunde unter Chemotherapie während multiplen Klinikbesuchen einen Anstieg der CPV-Antikörper entwickelten (HENRY et al., 2001). Durch die hohe Kontagiosität des Virus (GREENE & DECARO, 2012; PARRISH, 2017) genügt bereits eine durchschnittliche infektiöse Dosis von 1.000 Viruspartikeln (NANDI et al., 2013), um bei empfänglichen Hunden eine Immunantwort auszulösen. Erkrankte Hunde wiederum scheiden in nur einem einzigen Gramm Kot etwa eine Milliarde Viruspartikel aus (SHERDING, 2000; NANDI et al., 2013). Zugleich ist CPV äußerst stabil gegenüber physikalischen und chemischen Einflüssen (JOHNSON & SPRADBROW, 1979; GORDON & ANGRICK, 1986; NANDI et al., 2013; SYKES, 2014b; PARRISH, 2017). Es ist davon auszugehen, dass das Virus selbst unter ungünstigsten Bedingungen über Jahre in der Umwelt persistieren kann (GODDARD & LEISEWITZ, 2010; GREENE & DECARO, 2012; SIEGL, 2012; SYKES, 2014b; DAY et al., 2016; GARDNER, 2017). Neben der direkten Transmission können auch Vektoren, wie kontaminierte Gegenstände, Menschen, Nager oder Insekten, zur Übertragung des Erregers beitragen (GREENE & DECARO, 2012; SYKES, 2014b). Es konnte sogar der molekulare Nachweis erbracht werden, dass CPV durch Fliegen verbreitet wird (BAGSHAW et al., 2014). In der Summe machen diese Eigenschaften CPV zu einem sehr erfolgreichen Pathogen und sind Voraussetzung dafür, dass das Virus innerhalb nur weniger Jahre ein pandemisches Ausmaß erreichen konnte (PARRISH, 2017). Selbst in geographisch abgeschiedenen Regionen, wie den Galapagosinseln, mit einem Impfverbot und einem stark reglementierten Tierverkehr, wurden hohe Prävalenzen an Antikörpern gegen CPV bei Hunden nachgewiesen (LEVY et al., 2008; DIAZ et al., 2016). So detektierten LEVY et al. auf Isabela Island sogar bei 100 % (95/95) ungeimpfter und weitestgehend freilebender Hunde, die im Rahmen eines Kastrationsprojekts untersucht wurden, Antikörper gegen CPV. Sie folgerten, dass das Virus in der dortigen Population endemisch auftritt und die Hunde zum Zeitpunkt der Probennahme subklinisch infiziert waren oder erst kürzlich eine Infektion durchgemacht hatten. Hierfür wurde von den Autoren sowohl eine mögliche Persistenz von CPV vor Begrenzung des Tierverkehrs, aber auch illegaler

Tierschmuggel oder Kontamination von Menschen- und Frachtverkehr als Erklärungen angeführt. Obwohl Parvoviren in der heimischen Tierwelt von Galapagos nicht bekannt sind, können die Viren durch ihr Mutationspotential auch für neue Arten empfänglich werden (LEVY et al., 2008). So stellt ein erweitertes Wirtsspektrum der neueren Virusvarianten CPV-2a, CPV-2b und canines Parvovirus-2c (CPV-2c), das eine Übertragung von Hunden auf Katzen sowie Wildfeliden ermöglicht (MIRANDA & THOMPSON, 2016b), einen zusätzlichen epidemiologischen Vorteil dar. Wildtiere und Haushunde teilen sich oft dasselbe Habitat (KNOBEL et al., 2014) und man geht davon aus, dass eine Transmission von CPV in beide Richtungen stattfindet (HOELZER & PARRISH, 2010). Mit ansteigendem Bevölkerungswachstum ist davon auszugehen, dass der Kontakt zwischen Haus- und Wildtieren noch weiter zunimmt, was eine Übertragung zusätzlich begünstigt (LAURENSEN et al., 1997). Dabei genügt für ein Übergreifen bereits der Kontakt zum Kot infizierter Tiere (STEINEL et al., 2001). In vielen Ländern, in denen CPV endemisch auftritt, werden freilebende Hunde als mögliches Reservoir für CPV bei Haus- und Wildtieren diskutiert, so etwa in Afrika (MCREE et al., 2014; SAASA et al., 2016), Argentinien (OROZCO et al., 2014), Bolivien (FIORELLO et al., 2004; FIORELLO et al., 2006; BRONSON et al., 2008), Brasilien (CURI et al., 2010; CURI et al., 2016), Chile (ACOSTA-JAMETT et al., 2014; ACOSTA-JAMETT et al., 2015), Indien (BELSARE et al., 2014), Italien (CORRAIN et al., 2007), Südkorea (YANG et al., 2010) sowie auf Galapagos (DIAZ et al., 2016) und Kap Verde (CASTANHEIRA et al., 2014). Nicht immer kann jedoch eine Übertragung über die Artgrenzen hinweg eindeutig nachgewiesen werden (CALATAYUD et al., 2019). COURTENAY et al. konnten zeigen, dass in Populationen, in denen nur wenige Hunde Antikörper gegen CPV aufwiesen, auch nur wenige Wildkaniden infiziert waren. Die Autoren hatten in den Jahren 1993 bis 1995 Blutproben von 23 Hunden aus neun Dörfern im Norden Brasiliens untersucht sowie von 37 Krabbenfüchsen (*Cerdocyon thous*), bei denen mithilfe von Radiotelemetrie eine hohe peridomestische Aktivität nachgewiesen worden war. Nur 13 % der Haushunde (3/23) und kein einziger Wildhund hatten in dieser Untersuchung Antikörper gegen CPV (COURTENAY et al., 2001). Mitunter wiesen Wildkaniden jedoch eine höhere Prävalenz an Antikörpern gegen CPV auf als Haushunde. In einer Untersuchung im Südosten Brasiliens wurden bei 100 % der getesteten Wildkaniden (21/21) Antikörper gegen CPV detektiert, während von den untersuchten Haushunden nur 59 % (41/70) positiv getestet wurden (CURI et

al., 2010). Damit könnten auch Wildtiere entscheidend zur Verbreitung von CPV beitragen (TUCCIARONE et al., 2018). Aber auch der freie Reiseverkehr von Menschen und Haustieren gilt als wichtiger Faktor (TUCCIARONE et al., 2018). So wurden identische Virusvarianten in geographisch weit entfernten Ländern, wie Italien und Thailand, gefunden (MIRA et al., 2018). Manche Autoren vermuteten, dass CPV periodisch von asymptomatischen Hunden ausgeschieden wird, die damit zur Persistenz und kontinuierlichen Zirkulation des Erregers in der Population beitragen (CASTANHEIRA et al., 2014). Aber nicht nur CPV-Feldvirus, sondern auch attenuiertes Impfvirus kann über den Kot verbreitet werden. Es ist denkbar, dass auch dieser Umstand zur Belastung der Umwelt und somit zum Erhalt und zur Boosterung von Antikörpern gegen CPV beiträgt (DODDS, 2002; GREENE & LEVY, 2012; BROUSSOU et al., 2016; CALATAYUD et al., 2019) (siehe auch 2.1.3.1. und 2.3.3.).

Abgesehen von der natürlichen Exposition in der Umwelt, können Antikörper gegen CPV auch durch Impfungen erworben werden. Dabei hat der Impfstoff wesentlichen Einfluss auf die Entwicklung und Persistenz von Antikörpern (ALMENDRA et al., 2005). Eine Studie in der Schweiz ermittelte eine vergleichsweise niedrige Prävalenz an Antikörpern gegen CPV von 66 % (179/257). Die Autoren postulierten, dass dies wahrscheinlich auf den Einsatz weniger immunogener inaktivierter Impfstoffe zurückzuführen sei, die in der Schweiz bis wenige Jahre vor Durchführung der Studie gebräuchlich waren. So war z. B. ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Präsenz protektiver CPV-Titer und dem Abstand zur letzten Impfung zu erkennen. Während bei jährlich geimpften Hunden eine Prävalenz von 77 % (34/44) detektiert wurde, wiesen nur 64 % der Hunde (136/213), die mehr als ein Jahr nicht geimpft worden waren, Antikörper gegen CPV auf. Dabei sank die Antikörperprävalenz bereits bei einem Impfabstand von zwei bis drei Jahren drastisch auf 51 % (31/61) ab (OTTIGER et al., 2006). Der Effekt des Impfstoffs zeigte sich auch deutlich in zwei älteren schwedischen Untersuchungen. So hatten in einer Studie aus dem Jahre 1988, als vornehmlich inaktivierte heterologe Impfstoffe eingesetzt wurden, weniger als 50 % der Hunde protektive Antikörper gegen CPV (OLSON et al., 1988). In einer nachfolgenden Studie aus dem Jahr 1996 wurden inaktivierte Impfstoffe und MLV direkt gegenübergestellt. Dabei zeigte sich, dass nur 69 % der Hunde, die mit Impfstoffen aus inaktiviertem Virus geimpft worden waren, einen HAH-Titer  $\geq 80$  aufwiesen,

wohingegen nach MLV-Impfung ein solcher Titer bei 90 % der Hunde erreicht wurde (OLSON et al., 1996). Mit dem weiten Einsatz von MLV wird in jüngeren Studien noch Jahre nach der Impfung eine hohe Antikörperprävalenz nachgewiesen, etwa 99 % bei einem Impfabstand von bis zu 124 Monaten (KILLEY et al., 2018). Allerdings werden auch immer wieder Hunde detektiert, die nach MLV-Impfung keine Antikörper gegen CPV entwickeln. So zeigte auch die Untersuchung von KILLEY et al., dass trotz dokumentierter Impfhistorie nicht alle Hunde Antikörper gegen CPV aufwiesen. Die Autoren gaben an, dass zum Zeitpunkt der Messung ein Abfall ehemals hoher Antikörper unter die Nachweisgrenze vorgelegen haben könnte (KILLEY et al., 2018). Doch selbst nach Wiederholungsimpfung bleibt ein Teil der Hunde ohne nachweisbare Antikörper gegen CPV. So entwickelten in der Untersuchung von OTTIGER et al. nur 68 % der Hunde (54/80), die mit einem HAH-Titer  $< 80$  einer Boosterimpfung unterzogen wurden, innerhalb von drei Wochen CPV-Antikörper, die oberhalb des Grenzwertes lagen (OTTIGER et al., 2006). In einer anderen Untersuchung detektierten MITCHELL et al. bei 235 adulten Hunden, die zur Impfung vorgestellt wurden, 1 % (exakt 1,3 %) Nicht-Reagenten; dabei hatten 97 % der Hunde bereits zum Zeitpunkt der Vorstellung HAH-Titer  $> 10$ , während ein weiteres Prozent der Hunde mit einem mindestens vierfachen Titeranstieg auf die Nachimpfung reagierten (MITCHELL et al., 2012). LITSTER et al. verfolgten die Entwicklung von CPV-Antikörpern bei 51 Hunden, die zuvor in einem städtischen Tierheim geimpft worden waren. Dabei ergab die Antikörpertestung mittels eines kommerziellen Schnelltests, der mit einem HAH-Titer  $\geq 80$  korreliert war, bei 2 % der Hunde (exakt 2,1 %) noch zwei Wochen später kein positives Ergebnis (LITSTER et al., 2012a). Ursächlich für ein Ausbleiben der Antikörperproduktion bei adulten Hunden werden etwa Begleiterkrankungen oder genetische Non-Responder angeführt (KILLEY et al., 2018) (siehe auch 2.3.2.).

Damit wird die Detektion spezifischer Antikörper auch vom Immunstatus der Population beeinflusst (GREINER & GARDNER, 2000a). Je nach Selektion der Studienpopulation sind mitunter von der Normalverteilung abweichende Ergebnisse möglich. Es konnte nachgewiesen werden, dass Hunde, die intensivmedizinisch wegen diverser schwerer Erkrankungen behandelt werden mussten, trotz hoher Impfquote weniger häufig protektive Antikörper gegen CPV aufwiesen als gesunde Populationen. Es wird diskutiert, ob kranke Hunde in der

Lage sind, eine ausreichende anamnestiche Immunantwort zu entwickeln (MAHON et al., 2017). Auch ein negativer Einfluss von physischem Stress auf die humorale Immunität wird immer wieder angeführt. Statt eines erwarteten Titerabfalls wurde allerdings bei 31 % (61/194) geimpfter Schlittenhunde nach Teilnahme beim Iditarod-Trail ein signifikanter Anstieg der Antikörper gegen CPV gemessen. Dabei hatten Hunde, die das Rennen schneller absolviert hatten, im Vergleich zu langsameren Hunden einen stärker ausgeprägten Titeranstieg. Die Autoren erklärten dies mit einer unspezifischen Stimulation des Immunsystems in Zusammenhang mit der intensiven körperlichen Aktivität oder einer natürlichen Boosterung durch Kontakt zu anderen Hunden und Wildtieren im Verlauf des Rennens (BANSE et al., 2008).

Obwohl Antikörpertests in epidemiologischen Studien gebräuchlich sind, um die Immunität in einer Population abzuschätzen, kann die Interpretation der Ergebnisse herausfordernd sein (GREINER & GARDNER, 2000b). So hängt der Nachweis von Antikörpern nicht nur von biologischen Einflussgrößen, sondern auch von externen Faktoren, wie der Probennahme, dem Probenhandling, der korrekten Testdurchführung sowie der Präzision und Validität der jeweiligen Nachweismethode, ab (GREINER & GARDNER, 2000a). Speziell das eingesetzte Messverfahren hat einen wesentlichen Einfluss auf den Nachweis von Antikörpern gegen CPV (LUFF et al., 1987; SCHODER et al., 2006; WANER et al., 2006; LITSTER et al., 2012a). Nicht immer wird in Prävalenzstudien der HAH verwendet, der allgemein als Goldstandard akzeptiert und nachweislich mit einem Schutz vor einer Infektion korreliert ist. Viele Labore nutzen auch zunehmend den SNT zum Antikörpernachweis (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997). Dagegen sind bei Verwendung von POCT-Systemen auf ELISA-Prinzip, deren Qualität oft nicht ausreichend ist, sowohl falsch-positive Ergebnisse aufgrund einer schlechten Spezifität als auch falsch-negative Ergebnisse aufgrund einer schlechten analytischen Sensitivität möglich (SYKES & RANKIN, 2014). Die Signifikanz dieser Einflüsse auf die „wahre“ CPV-Antikörperprävalenz wird immer wieder diskutiert (KILLEY et al., 2018). Aus diesem Grund sollten prinzipiell nur ELISA-Kits eingesetzt werden, die im Infektionsversuch oder gegen etablierte Nachweistechiken validiert sind (GREENE & LEVY, 2012). Bis dato gibt es allerdings nur wenige unabhängige klinische Studien, die die Validität der auf dem Markt verfügbaren ELISA-Kits untersuchten. In der jüngsten Veröffentlichung



evaluierten KIM et al. die Unterschiede in der Performance von zwei kommerziellen Schnelltests im Vergleich zum HAH an 105 gesunden Hunden; sie ermittelten für den TiterCHEK® eine Spezifität von 100 % und eine Sensitivität von 89 % und für den ImmunoComb Canine VacciCheck® eine Spezifität von 81 % und eine Sensitivität von 88 % (KIM et al., 2017). In älteren Studien war der TiterCHEK® deutlich besser bewertet worden. So fanden LITSTER et al. für diesen Test eine Spezifität von 94 % und eine Sensitivität von 92 % (LITSTER et al., 2012b). Und GRAY et al. ermittelten für den TiterCHECK® sogar eine Spezifität und Sensitivität von jeweils 98 % (GRAY et al., 2012). Doch selbst bei der Anwendung gleicher Testverfahren im Labor sind durch mangelnde Validierung in verschiedenen Laboren unterschiedliche Ergebnisse möglich (LUFF et al., 1987; FORD, 2001a; GREENE & LEVY, 2012; SYKES & RANKIN, 2014). Erschwerend wird der Cut-off-Wert, ab dem ein Antikörpernachweis als positiv gewertet wird, in verschiedenen Studien unterschiedlich angegeben. So definieren viele Studien einen Titer  $\geq 80$  als Grenzwert, während andere Studien auch niedrigere Titer als positiv werten (siehe auch 1.). Daher wird für eine bessere Vergleichbarkeit immunepidemiologischer Studien mitunter auch die Verwendung des GMT empfohlen (BENNETT & RILEY, 1992; GREINER & GARDNER, 2000b).

## 2. Aktive Impfung

Die sogenannte „Vakzination“ begründet sich auf der Beobachtung, dass Kuhpocken (vacca = lateinisch Kuh) nach Übertragung auf die Hände von Melkern vor einer Erkrankung durch echte Pocken schützten. Exakt nachgewiesen wurde das Prinzip erstmals durch den englischen Arzt Edward Jenner (1749–1823), dem es am 14.05.1796 durch eine Inokulation mit dem Blaseninhalt einer an Kuhpocken erkrankten Melkerin gelang, einen achtjährigen Jungen vor der Erkrankung durch eine spätere Prüfinfektion mit virulentem menschlichen Pockenblaseninhalt zu schützen (HEININGER et al., 2005). Nach Veröffentlichung der Ergebnisse seiner Untersuchungen *„An inquiry into the causes and effects of the variolae vaccinae, a disease discovered in some of the western counties of England, particularly Gloucestershire and known by the name of the Cow-Pox“* im Jahr 1798 setzte sich die Innovation der Impfung nach anfänglicher Skepsis weltweit durch (KLINKHAMMER, 1996). Die Impfung ist auch die wichtigste und wirksamste Maßnahme, die zum Schutz gegen canine Parvovirose zur Verfügung steht (ROTH, 1999; GREENE et al., 2001; LARSON & SCHULTZ, 2007; NANDI et al., 2013; SYKES, 2014b; MIRANDA & THOMPSON, 2016b; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017). Dabei wird das Immunsystem zur Bildung einer erregerspezifischen und langanhaltenden Immunität angeregt, ohne vorher die Erkrankung durchgemacht zu haben (KRETH, 2005). Geimpfte Hunde sind bestenfalls vollständig vor einer Infektion, zumindest aber vor Krankheit, geschützt und scheiden zu keinem Zeitpunkt mehr infektiöses CPV-Feldvirus aus, wodurch die Zirkulation und Weiterverbreitung des Erregers innerhalb der Population eingedämmt wird (TERPSTRA & KROESE, 1996; HORZINEK et al., 1997b; NIEWIESK & OGLESBEE, 2017).

So konnte durch erfolgreiche Impfmaßnahmen der initial seuchenhafte Charakter der caninen Parvovirose weltweit zurückgedrängt werden (APPEL, 1999; ROTH, 1999; TRUYEN, 2000). Eine vollständige Eradikation des Virus entsprechend der von Frank Fenner (1914–2010) aufgestellten Voraussetzungen (FENNER, 1982; PASTORET, 2006, 2007) ist jedoch v. a. aufgrund der hohen Umweltstabilität von CPV, seiner enormen Mutationsfähigkeit, der Häufigkeit subklinischer Ausscheidungen und der Wildtierreservoirs nicht zu erwarten (POVEY & CARMAN, 1997e; HORZINEK, 1999; PASTORET, 2007). Aus diesem Grund wird die Impfung gegen CPV auch weiterhin von allen führenden Expertengruppen

als „Core-Komponente“ eingestuft (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2019) (siehe auch 2.2.). Noch immer infizieren sich viele Hunde mit CPV (PARRISH, 2017). In den Vereinigten Staaten von Amerika (United States of America (USA)) geht man von über einer Million Erkrankungsfällen pro Jahr aus (OTTO et al., 2001). Die Mortalitätsrate wird in den meisten Untersuchungen zwischen 21 und 36 % angegeben (GLICKMAN et al., 1985; OTTO et al., 1997; MANN et al., 1998; SARPONG et al., 2017). Neben der rein symptomatischen Therapie wurde die Wirksamkeit zusätzlicher Medikamente in verschiedenen Studien untersucht, wie rekombinanter humaner Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor (REWERTS et al., 1998), rekombinanter caniner Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor (DUFFY et al., 2010), rekombinantes Bakterien-permeabilisierendes Protein (OTTO et al., 2001), FPV-Antikörper (GERLACH et al., 2017), rekombinantes felines Interferon- $\omega$  (ISHIWATA et al., 1998; MINAGAWA et al., 1999; MARTIN et al., 2002; DE MARI et al., 2003), der Paramunitätsinducer PIND-ORF (PROKSCH et al., 2014), Endotoxin-Antikörper (DIMMITT, 1991; MANN et al., 1998) oder Oseltamivir (SAVIGNY & MACINTIRE, 2010). Die Behandlung erfordert nach wie vor in vielen Fällen eine aggressive symptomatische Therapie mit entsprechend langer Hospitalisierungszeit und ist daher mit einem hohen finanziellen Aufwand für die Besitzer verbunden (OTTO et al., 2001).

Dies unterstreicht, gerade in Zeiten zunehmender Impfskepsis, einmal mehr die Wichtigkeit einer adäquaten Immunprophylaxe gegen CPV (MEYER, 2001; DAY, 2006; DAY & SCHULTZ, 2014m). Erst eine hohe Durchimpfungsrate ermöglicht den Schutz vulnerabler Subpopulationen, die aus medizinischen Gründen nicht selbst geimpft werden oder keine ausreichende Immunität aufbauen können (MARTINOD, 1999; MARCKMANN, 2013). Gleichzeitig sollen Impfungen für den einzelnen Hund aber stets auf das notwendige Maß beschränkt bleiben (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2019). Gemäß dem Standpunkt von Professor Ronald Schultz „*be wise and immunize, but immunize wisely*“, ist die Impfung als medizinische Intervention grundsätzlich auf Basis einer Nutzen-Risiko-Abwägung und entsprechend den neuesten wissenschaftlichen Erkenntnissen durchzuführen (SCHULTZ, 1998). Die folgenden Kapitel sollen daher alle relevanten Aspekte der Impfung gegen CPV, von den Impfstoffen über die aktuellen Leitlinien bis hin zu möglichen Problemen, darlegen.

## **2.1.      Impfstoffe**

Schon seit den 1980er Jahren sind verschiedene kommerzielle Impfstoffe gegen CPV verfügbar. Abgesehen von den klassischen MLV und Impfstoffen aus inaktiviertem Virus, befinden sich Impfstoffe der neueren Generation auf Basis rekombinanter DNA-Technologie in verschiedenen Stufen der Entwicklung. Sie könnten eine sichere, effektive Perspektive für die Zukunft sein (FORD, 2001a; VAN KAMPEN, 2001; DODDS, 2002; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017), sind allerdings gegenwärtig noch nicht für den kommerziellen Einsatz zur Impfung gegen CPV zugelassen (GREENE et al., 2001; NANDI & KUMAR, 2010; SYKES, 2014a; PAUL-EHRLICH-INSTITUT (BUNDESINSTITUT FÜR IMPFSTOFFE UND BIOMEDIZINISCHE ARZNEIMITTEL), 2019b).

### **2.1.1.    Herstellung und Bewertung der Wirksamkeit**

Generell ist die Impfstoffherstellung ein komplexer und langwieriger Prozess. So dauert es im Durchschnitt zwölf bis 15 Jahre, einen neuen Impfstoff zu entwickeln (SCHLÜTER, 2013). Bevor ein solches Produkt schließlich auf dem Markt eingeführt werden kann, bedarf es eines umfassenden Zulassungsverfahrens durch (1) das Paul-Ehrlich-Institut (PEI) für eine nationale Zulassung oder (2) die Europäische Arzneimittelagentur (European Medicines Agency (EMA)) für eine zentrale Zulassung innerhalb der Europäischen Union (EU). Dabei werden neben der Wirksamkeit auch die Unbedenklichkeit und Sicherheit der Impfstoffe geprüft. Nach der Zulassung werden einzelne Produktchargen nochmals separat durch das PEI geprüft und freigegeben. Daten über das Auftreten unerwünschter Wirkungen, potentielle Nebenwirkungen und die Effektivität werden auch nach der Markteinführung zentral durch das PEI gesammelt und bewertet (BUNDESMINISTERIUM DER JUSTIZ UND FÜR VERBRAUCHERSCHUTZ & BUNDESAMT FÜR JUSTIZ, 2006; BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG LANDWIRTSCHAFT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2013). Die Erkenntnisse werden in regelmäßigen Pharmakovigilanzberichten im Deutschen Tierärzteblatt veröffentlicht (HOFFMANN et al., 2003; HOFFMANN et al., 2005a, 2005b, 2006, 2007, 2008; HOFFMANN et al., 2010; HOFFMANN et al., 2011; CUßLER & SCHWEDINGER, 2012; HOFFMANN et al., 2012; HOFFMANN et al., 2013, 2015, 2016). Von einem „idealen“ Impfstoff werden bestimmte Eigenschaften erwartet (Tabelle 5).

**Tabelle 5: Merkmale eines idealen Impfstoffs (in Anlehnung an POVEY & CARMAN, 1997a)**

<b>Merkmal</b>	<b>Einflussfaktor</b>
<b>Sicherheit</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Totimpfstoffe naturgemäß sicherer als Lebendimpfstoffe</li> <li>▪ keine Residualvirulenz und keine Virulenzreversion</li> <li>▪ keine Toxizität (weder von Antigenen noch von Hilfsstoffen)</li> <li>▪ keine Persistenz und/oder postvakzinale Ausscheidung des Antigens</li> <li>▪ sichere Anwendung bei immunsupprimierten und trächtigen Tieren sowie bei Tieren aller Altersgruppen</li> <li>▪ keine Induktion von Immunkomplexen</li> <li>▪ keine anaphylaktogenen Eigenschaften</li> </ul>
<b>Effektivität</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Induktion einer 100%igen protektiven Immunantwort bei immun-kompetenten Impflingen</li> <li>▪ Induktion einer stabilen Immunität gegenüber zunehmenden Belastungen</li> <li>▪ Induktion einer langjährigen (möglichst lebenslangen) Immunität</li> <li>▪ schnelle Induktion einer Immunität</li> <li>▪ breite Kreuzprotektivität gegenüber antigenen Varianten</li> <li>▪ Überwinden mäßiger MDA-Titer</li> </ul>
<b>Komfort bei der Anwendung</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Effektivität einer einzelnen Impfdosis</li> <li>▪ multivalente Kombinationsmöglichkeiten</li> <li>▪ Stabilität bei normaler Handhabung</li> <li>▪ kein Erfordernis zur Rekonstitution</li> <li>▪ komfortable Standardimpfdosis</li> <li>▪ praktikables Impfschema</li> <li>▪ ggf. Eignung für Masseneimpfungen</li> </ul>
<b>Bezahlbarkeit</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Kosten (für Entwicklung, Produktion und Impfung) geringer als Nutzen</li> </ul>

‰: Prozent, ggf.: gegebenenfalls, MDA: maternally derived antibodies (maternale Antikörper).

Der Anspruch an einen effektiven CPV-Impfstoff war, nicht nur Protektion vor einer klinischen Erkrankung zu vermitteln, sondern eine Infektion mit CPV-Feldisolaten und eine Virusausscheidung und Transmission bestenfalls vollständig zu unterbinden (TERPSTRA & KROESE, 1996). Um die Schutzwirkung eines einzelnen CPV-Impfstoffs in vivo zu überprüfen, können verschiedene Parameter herangezogen werden (STANN et al., 1984; VAN OIRSCHOT, 1997a; NANDI & KUMAR, 2010; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; HERNÁNDEZ-BLANCO & CATALA-LÓPEZ, 2015):

- (1) Klinische Beobachtung mittels Scoring-System: Reduktion der Morbidität durch Apathie, Anorexie, Erbrechen, Durchfall, Dehydratation, Fieber sowie Reduktion der Mortalität
- (2) Messung der Leukozytenzahl (insbesondere der Lymphozytenzahl)
- (3) Messung der Virusausscheidung im Kot (wenn möglich durch sensitive Polymerase-Kettenreaktion (PCR))
- (4) Messung der spezifischen Antikörper
- (5) Fähigkeit MDA zu überwinden

Die Entwicklung von Impfstoffen, die in der Lage sind, zuverlässig eine protektive Immunität in der frühen Lebensphase zu induzieren, ist eine der größten Herausforderungen der Vakzinologie (SIEGRIST, 2007a). Besonders die Fähigkeit, MDA zu überwinden, gilt als wichtiges Qualitätsmerkmal für einen CPV-Impfstoff (LARSON & SCHULTZ, 1997; BERGMAN et al., 2006; KANELLOS et al., 2006d; KANELLOS et al., 2006a; SIEGRIST, 2007a). Die Europäische Arzneimittel-Agentur (European medicines agency (EMA)) fordert im Rahmen des Zulassungsverfahrens *„if the indication or specific claims for the vaccine are related to efficacy in the presence of maternal antibodies against the vaccine agent(s), the trial protocol shall induce animals with titres of these antibodies normally occurring in the field“* (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2001). Während bei Impfstoffen aus inaktiviertem Virus v. a. eine hohe Antigenkonzentration als aussichtsreich eingeschätzt wird (POULET, 2007), sollte bei MLV die Höhe des Virustiters nicht als alleiniges Kriterium zur Beurteilung der Effektivität verwendet werden (LARSON & SCHULTZ, 1996b; HOARE et al., 1997; LARSON & SCHULTZ, 1997). So konnte nachgewiesen werden, dass zwei weitverbreitete kommerzielle hochtitrige MLV ( $> 10^{5,5}$  Gewebekultur-infektiöse Dosis 50 % (GKID<sub>50</sub>) pro Impfdosis) bei SPF-Hunden nur eine geringe Antikörperantwort gegen CPV induzierten (CARMICHAEL, 1999). Auch FRIEDRICH und TRUYEN konnten in einer Feldstudie an 388 Welpen keinen besseren Impferfolg bei der Verwendung hochtitriger Vakzinen ( $> 10^6$  GKID<sub>50</sub>/Impfdosis) zweier Hersteller im Vergleich zu niedrigtitrigeren Impfstoffen ( $10^3$  oder  $10^4$  GKID<sub>50</sub>/Impfdosis) zweier anderer Hersteller feststellen (FRIEDRICH & TRUYEN, 2000). Die Immunogenität einer CPV-Vakzine kann aber durch die Verwendung eines virulenteren Impfvirus entscheidend verbessert werden, welches z. B. durch eine geringere Zahl an Zellkulturpassagen hergestellt wurde oder neue Virusisolate enthält (CARMICHAEL, 1999; GREENE & LEVY, 2012). Allerdings konnten auch niedrigpassagierte Impfstämme, die nur wenig Antigen enthielten, keine konstant guten Ergebnisse bei der Impfung von Welpen mit interferierenden MDA erzielen (O'BRIEN, 1994). Daher enthalten neue Generationen „potenzierter“ MLV weniger attenuierte immunogenere Virusstämme in ausreichend hoher Konzentration; im Vergleich zu den frühen Impfstoffen waren sie in der Lage, die „kritische Phase“ bei der Erstimpfung von Welpen in Infektionsversuchen deutlich zu reduzieren (BURTONBOY et al., 1991; LARSON & SCHULTZ, 1996b, 1996a; HOARE et al., 1997; HOSKINS, 1997;

LARSON & SCHULTZ, 1997; DE CRAMER et al., 2011; GREENE & LEVY, 2012). Als Ergänzung zu den konventionellen Bewertungskriterien von CPV-Impfstoffen können auch die Bestimmung von akute-Phase-Proteinen, wie saures  $\alpha$ -1-Glykoprotein oder Serum-Amyloid-A, sowie die Leukozyten-Phänotypisierung mittels Durchflusszytometrie in Kombination mit der klassischen Leukozytenmessung herangezogen werden (YULE et al., 1997).

In Europa werden die Anforderungen an die Immunogenität von Impfstoffen hauptsächlich durch zwei Rechtsakte, dem Europäischen Arzneibuch (European Pharmacopoeia, mittlerweile erschienen in der zehnten Auflage (THE EUROPEAN PHARMACOPOEIA COMMISSION (COUNCIL OF EUROPE), 2019)), und verschiedenen Regelwerken der EMA reguliert (BRUCKNER, 2010). Wenngleich sich die Ansätze zur Evaluation der Schutzwirkung von Impfstoffen in der Veterinär- und Humanmedizin z. T. deutlich voneinander unterscheiden (KNIGHT-JONES et al.), so werden dennoch auch in der Tiermedizin zwei Zeiträume, vor und nach der Zulassung, beurteilt (TERPSTRA & KROESE, 1996; DESMETTRE & MARTINOD, 1997b; MEYER, 2001).

Zunächst werden zur Wirksamkeitsbeurteilung randomisierte placebokontrollierte Studien bei der Zieltierart durchgeführt, in denen der Impfstoff unter optimalen Bedingungen im Infektionsversuch zur Anwendung kommt (DESMETTRE & MARTINOD, 1997b, 1997d, 1997e; VAN OIRSCHOT, 1997a). Daraus wird die sogenannte geschützte Fraktion (preventable fraction (PF)) berechnet (GREENE & LEVY, 2012; TIZARD, 2018i):

$$\text{PF (\%)} = \frac{(\text{Inzidenz bei Kontrolltieren} - \text{Inzidenz bei geimpften Tieren})}{\text{Inzidenz bei Kontrolltieren}} \times 100$$

Für wirksame Impfstoffe wird eine PF von mindestens 80 % gefordert. Entscheidend ist allerdings, welches Maß an Protektion gewünscht ist und welche infektiöse Dosis gewählt wird. So könnte ein exorbitant hoher Infektionsdruck jede impfinduzierte Immunität durchbrechen (TIZARD, 2018i).

Um die Wirksamkeit eines Impfstoffs im Rahmen des Zulassungsprozesses adäquat zu evaluieren, ist es wichtig, die Konditionen einer natürlichen Infektion und die Bedingungen im Feld möglichst genau abzubilden. Dies ist unter Laborbedingungen jedoch nur mit gewissen Einschränkungen möglich (DESMETTRE & MARTINOD, 1997k). Daher schließen vor der Zulassung eines Impfstoffs noch kleinere Versuchsreihen im Feld an (DESMETTRE & MARTINOD, 1997j; EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2001; GREENE & LEVY, 2012; EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2016), bevor dann nach der Markteinführung die Beobachtung in der Population erfolgt. So kann es sein, dass nach einer breiten Anwendung unter nicht immer optimalen Bedingungen (z. B. bei der Impfstoff-Lagerung oder der Impfung nicht völlig gesunder Individuen), sich die Effektivität einer Vakzine als nicht so positiv herausstellt, wie auf Basis der Daten aus den Zulassungsstudien zu vermuten war (WICHMANN, 2013). Epidemiologische Beobachtungsstudien können unter anderem (u. a.) gezielt die Phänomene untersuchen, die in den Zulassungsstudien aufgrund begrenzter Probandenzahl und Studiendauer nicht nachweisbar waren, wie etwa eine nachlassende Schutzwirkung mehrere Jahre nach der Impfung (WICHMANN, 2013) oder der Einfluss der genetischen Varianz (DESMETTRE & MARTINOD, 1997k; GREENE & LEVY, 2012). So können etwa im Rahmen der Aufklärung von Ursachen für ein lokales Ausbruchsgeschehen wichtige Erkenntnisse gewonnen werden, z. B. über Chargenunterschiede, aber auch generelle Wissenslücken geschlossen werden, z. B. über die maximale DOI von Impfstoffen, potentielle Interferenzen oder auch Effektivitätsunterschiede zwischen verschiedenen Produkten (WICHMANN, 2013). Damit ist die Post-Market Surveillance ein wichtiges Instrument, um die Wirksamkeit, aber auch die Sicherheit und Verträglichkeit von Impfstoffen unter realen Bedingungen sicherzustellen (DAY et al., 2016; STIKO VET AM FLI, 2018). Auch KNIGHT-JONES et al., die einen Vergleich der Methoden zur Beurteilung human- und veterinärmedizinischer Impfstoffe vornahmen, betonten die Bedeutung der Beobachtungsstudien im Feld, um den Erfolg von Impfprogrammen realistisch beurteilen zu können (KNIGHT-JONES et al.). Allerdings muss bei der Beobachtung im Feld im Vergleich zu den kontrollierten Studien vor der Zulassung, immer auch ein höheres Potential für systematische Verzerrungen (Bias-Risiko) berücksichtigt werden (WICHMANN, 2013). Weiter werden für jede Charge immer auch Wirksamkeitstests durchgeführt (TERPSTRA & KROESE, 1996; LUCKEN & STOLP, 1997b). Dabei wird



üblicherweise der Antigengehalt als Indikator genutzt, bevor im Anschluss die humorale Immunantwort bei der Zieltierart oder einem Labormodell demonstriert wird (LUCKEN & STOLP, 1997b).

Über die Jahre ließen sich große Unterschiede in der Wirksamkeit der CPV-Impfstoffe feststellen. Als der Erreger erstmals Ende der 1970er Jahre auftrat (APPEL et al., 1979a; APPEL et al., 1979b; APPEL et al., 1980b; CARMICHAEL & BINN, 1981), wurden zunächst heterologe Vakzinen auf Basis von FPV und MEV in hohen Dosen zur Impfung von Hunden verwendet (APPEL et al., 1979b; APPEL & CARMICHAEL, 1980b; APPEL et al., 1980b; CHAPEK et al., 1980; CHAPPUIS & DURET, 1980; FLÜCKIGER, 1980; CHAPEK et al., 1981; CARMAN & POVEY, 1982b; GORDON & ROGERS, 1982; HIRASAWA et al., 1982; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a, 1982b; WIERUP et al., 1982; CARMICHAEL, 1983; MURISIER et al., 1983; POLLOCK & CARMICHAEL, 1983a). Die heterologe Impfung wurde v. a. deshalb eingesetzt, um schnell einen Impfstoff parat zu haben, der zumindest einen teilweisen Schutz vermitteln konnte, bis ein geeigneter homologer Impfstoff entwickelt war (BABIUK, 1997a). Insbesondere inaktivierte heterologe Vakzinen erwiesen sich beim Hund aber nur als begrenzt wirksam (HIRASAWA et al., 1982; OLSON et al., 1988). Bei der Anwendung von FPV-MLV war die Immunität gegen CPV je nach Antigengehalt sehr variabel (POLLOCK & CARMICHAEL, 1983a). Später folgten dann inaktivierte homologe Impfstoffe (APPEL & CARMICHAEL, 1980a; EUGSTER, 1980; SMITH et al., 1980b; WIERUP et al., 1980; CARMAN & POVEY, 1982a; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a, 1982b; POVEY, 1982; WALLACE & MCMILLEN, 1985; SMITH & JOHNSON, 1986), die initial aufgrund von Sicherheitsbedenken bevorzugt wurden (JOHNSON & SPRADBROW, 1979; MURISIER et al., 1983; SIEGL, 2012). Aber auch erste Lebendimpfstoffe auf Basis attenuierter CPV-Isolate erkrankter Hunde wurden bereits Anfang der 1980er eingesetzt, die in experimentellen Infektionsversuchen und serologischen Tests gute Erfolge erzielten und zugleich die nötige Sicherheit bei der Anwendung gewährleisteten (CARMICHAEL et al., 1981a; CARMICHAEL et al., 1981b; BASS et al., 1982; CARMICHAEL, 1983; CARMICHAEL et al., 1983; KAHN et al., 1983; CARMICHAEL et al., 1984; CHURCHILL, 1987). Allerdings gab es bis Anfang der 1990er Jahre noch sehr deutliche Unterschiede zwischen einzelnen kommerziellen Produkten in Bezug auf die Immunogenität, speziell in der

Anwendung bei Welpen mit interferierenden MDA (LARSON & SCHULTZ, 1997; CARMICHAEL, 1999) (siehe auch 1.1.4.).

Die Impfstoffe, die sich gegenwärtig auf dem Markt befinden, enthalten noch immer das ursprüngliche CPV-2 oder, weniger häufig, CPV-2b (siehe auch Tabelle 6). Dies führte zu Diskussionen und Bedenken, ob die Impfung auch einen adäquaten Schutz gegen andere verbreitete Virusvarianten, wie CPV-2a oder CPV-2c, vermitteln kann (TRUYEN, 2006; KAPIL et al., 2007; KAPIL & COOPER, 2008; LAMM & REZABEK, 2008; PATEL & HELDENS, 2009; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; LING et al., 2012; NANDI et al., 2013; HERNÁNDEZ-BLANCO & CATALA-LÓPEZ, 2015). Wenngleich in vitro speziell die neutralisierende Aktivität von CPV-Antikörpern gegen andere Virusvarianten signifikant niedriger sein kann als die gegen dieselben Varianten (PRATELLI et al., 2001; CAVALLI et al., 2008; KANG et al., 2008; OHSHIMA et al., 2008), wurde in vivo bislang keine definitive Bestätigung für eine fehlende Kreuzprotektivität gefunden. In verschiedenen Infektionsversuchen wurde gezeigt, dass MLV auf Basis von CPV-2 oder CPV-2b einen wirksamen Schutz gegen alle relevanten Varianten, einschließlich CPV-2c induzieren (APPEL & CARMICHAEL, 1987; GREENWOOD et al., 1995; YULE et al., 1997; LARSON & SCHULTZ, 2008; SPIBEY et al., 2008; SIEDEK et al., 2011; GLOVER et al., 2012; VON REITZENSTEIN et al., 2012; WILSON et al., 2013; WILSON et al., 2014a). Davon abweichend gibt es mehrere Fallberichte aus Italien von schweren klinischen Erkrankungen durch CPV-2c bei geimpften Hunden. In einem Fall waren elf Hunde eines Zuchtbetriebs im Alter von sechs Monaten bis 2,5 Jahren betroffen (DECARO et al., 2008), in einem anderen Fall drei Jagdhunde im Alter von fünf Monaten, sieben und zwölf Jahren (DECARO et al., 2009). Alle Hunde waren gut geimpft gewesen; die adulten Hunde hatten sogar jährliche Auffrischungsimpfungen mit CPV-2-Vakzinen erhalten. Bereits einige Jahre zuvor war mithilfe monoklonaler Antikörper eine neue CPV-Variante bei einem adulten geimpften Hund mit schwerer Gastroenteritis isoliert worden (CAVALLI et al., 2001). Auch dieses Virus wurde nachträglich durch molekulare Testverfahren als CPV-2c identifiziert (DECARO et al., 2009). Als mögliche Ursache für den mangelnden Schutz der Hunde wurde ein physiologischer Abfall der protektiven Immunität in Verbindung mit einer Immunevasion oder einem altersabhängigen Tropismus der CPV-2c-Variante vermutet (CAVALLI et al., 2008). CPV-2c wurde

auch bei einem Wurf von zwölf Welpen in Schweden isoliert, die einige Tage vor dem Ausbruch einer schweren hämorrhagischen Gastroenteritis mit einer CPV-2-MLV geimpft worden waren (SUTTON et al., 2013). MIRANDA und THOMPSON fanden in einer portugiesischen Feldstudie an 78 Hunden mit Symptomen einer Parvovirose nach der Impfung (vorrangig mit CPV-2-Vakzinen) in der Mehrheit der Fälle ebenfalls CPV-2c (28/50; 56 %), aber auch CPV-2b (21/50; 42 %) und CPV-2a (1/50; 2 %) (MIRANDA & THOMPSON, 2016a). MITTAL und Mitarbeiter konnten CPV-2a- und CPV-2b-Isolate bei Krankheitsausbrüchen in einem Zwinger geimpfter Hunde in Nordindien identifizieren (MITTAL et al., 2014). Aber auch neue Virusvarianten mit zusätzlichen Mutationen, z. B. eine neue CPV-2a-Variante mit drei zusätzlichen Mutationen (Phe267Tyr, Tyr324Ile und Thr440Ala), werden mit einem hohen selektiven Druck und einer Erkrankung geimpfter Hunde in Zusammenhang gebracht (DE OLIVEIRA et al., 2019). Allerdings darf bei der Interpretation solcher Fallberichte nicht außer Acht gelassen werden, dass, abgesehen von einer potentiell mangelhaften Kreuzprotektivität, eine Vielzahl anderer Gründe für eine reduzierte Wirksamkeit einer CPV-Impfung in Frage kommen (siehe auch 2.3.2.).

Die anfänglichen Bedenken, CPV-MLV könnten ein unkalkulierbares Sicherheitsrisiko darstellen, haben sich weitestgehend nicht bestätigt (CARMICHAEL, 1999; FORD, 2001a). Vielmehr bieten MLV einige entscheidende Vorteile (HORZINEK et al., 1997a; APPEL, 1999; CARMICHAEL, 1999; FORD, 2001a; GREENE et al., 2001; SYKES, 2014b), weshalb sie heute weitverbreitet sind (DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; DAY & SCHULTZ, 2014m). Insbesondere hochtitrige, niedrig-passagierte MLV gelten in vielen Fällen als Impfstoffe der Wahl (SMITH-CARR et al., 1997; PRITTIE, 2004; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; NANDI et al., 2013; DAY et al., 2016). Für Hunde, die korrekt mit einer CPV-MLV geimpft wurden, ist von einer Schutzwirkung von mindestens 98 % auszugehen (DAY et al., 2016). Unter bestimmten Voraussetzungen, etwa bei trächtigen Hündinnen, kann aber auch der Einsatz von Impfstoffen aus inaktiviertem Virus indiziert sein (DODDS, 2002; GREENE & LEVY, 2012; SYKES, 2014a; DAY et al., 2016; TIZARD, 2018i).

### 2.1.2. In Deutschland zugelassene Impfstoffe gegen canine Parvovirose

Einige CPV-MLV kommen den Kriterien für einen idealen Impfstoff sehr nahe (APPEL, 1999; CARMICHAEL, 1999). Das ist auch der Grund, warum sich MLV für die Anwendung bei adulten gesunden Hunden gegenüber den konventionellen Impfstoffen aus inaktiviertem Virus durchgesetzt haben. So sind in Deutschland gegenwärtig keine Impfstoffe aus inaktiviertem CPV mehr zugelassen. Dagegen besitzt eine große Auswahl an MLV auf Basis attenuierter CPV-2 und CPV-2b-Stämme, als Einzelimpfstoffe (sechs Produkte) oder als Kombinationsimpfstoffe (24 Produkte), die Zulassung für den deutschen Markt (Tabelle 6) (PAUL-EHRLICH-INSTITUT (BUNDESINSTITUT FÜR IMPFSTOFFE UND BIOMEDIZINISCHE ARZNEIMITTEL), 2019b).

#### Tabelle 6: In Deutschland zugelassene Impfstoffe gegen canine Parvovirose

auf dem Stand der Bekanntmachung des Paul-Ehrlich-Instituts (PEI) Nummer 457 über die Zulassung von Impfstoffen und biomedizinischen Arzneimitteln sowie andere Amtshandlungen im Bundesanzeiger des Bundesministeriums der Justiz und für Verbraucherschutz vom 08.04.2019 (PAUL-EHRLICH-INSTITUT (BUNDESINSTITUT FÜR IMPFSTOFFE UND BIOMEDIZINISCHE ARZNEIMITTEL), 2019b), ergänzt durch zusätzliche Informationen zu arzneilich wirksamen Bestandteilen (PharmNet.Bund, das Portal für Arzneimittelinformationen des Bundes und der Länder, verfügbar unter: <https://www.pharmnet-bund.de/dynamic/de/arzneimittel-informationssystem/index.html> [abgerufen am: 11.06.2019] und persönliche Kommunikation mit den Zulassungsinhabern: Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Deutschland, 22.05.2019; Ecuphar N. V., Belgien, 18.04.2019; VIRBAC Tierarzneimittel GmbH, Deutschland, 21.05.2019). Die Tabelle gibt keine Auskunft darüber, ob die Präparate auf dem Markt verfügbar sind.

Einzelimpfstoffe			
Name	Art des Impfstoffs	Hersteller	Zulassungsdatum
Eurican® P forte	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CPV780916, Stoffmenge $10^{5.5}$ bis $10^{7.2}$ GKID <sub>50</sub>	Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Deutschland	01.11.1994
Nobivac® Parvo	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm 154, Stoffmenge $10^7$ bis $10^{8.3}$ GKID <sub>50</sub>	Intervet Deutschland GmbH, Deutschland	29.08.2005
Vanguard® CPV	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm NL-35-D, Stoffmenge $10^{7.0}$ bis $10^{8.5}$ GKID <sub>50</sub>	Zoetis Deutschland GmbH, Deutschland	02.01.2006
Versican® Plus P	lebend, attenuiertes CPV-2b, Stamm CPV-2b-Bio 12/B, Stoffmenge $10^{4.3}$ bis $10^{6.6}$ GKID <sub>50</sub>	Zoetis Deutschland GmbH, Deutschland	04.04.2016
Virbagen® Parvo	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CPV780916, Stoffmenge $10^{5.0}$ bis $10^{7.0}$ GKID <sub>50</sub>	VIRBAC Tierarzneimittel GmbH, Deutschland	22.12.2005
Virbagen® Puppy 2b	lebend, CPV-2b, Stamm CPV39, Stoffmenge $10^{5.6}$ bis $10^{7.5}$ GKID <sub>50</sub>	VIRBAC S. A., Frankreich	17.05.2004

**Fortsetzung Tabelle 6:**

<b>Kombinationsimpfstoffe (Teil I)</b>				
<b>Name</b>	<b>Art des Impfstoffs</b>	<b>weitere Bestandteile</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Zulassungsdatum</b>
Canigen® DHPPi/L	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CPV780916, Stoffmenge 10 <sup>5.5</sup> bis 10 <sup>7</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, CPiV-2, Leptospiren- Serovare	VIRBAC Tierarzneimittel GmbH, Deutschland	20.12.2005
Eurican® DAP	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CAG2, Stoffmenge 10 <sup>4.9</sup> bis 10 <sup>7.1</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2	Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Deutschland	14.04.2016
Eurican® DAP- Lmulti	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CAG2, Stoffmenge 10 <sup>4.9</sup> bis 10 <sup>7.1</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, Leptospiren- Serovare	Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Deutschland	14.09.2015
Eurican® DAP-LR	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CAG2, Stoffmenge ≥ 10 <sup>4</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, Leptospiren- Serovare, Tollwutvirus	Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Deutschland	15.06.2005
Eurican® DAPPi	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CAG2, Stoffmenge 10 <sup>4.9</sup> bis 10 <sup>7.1</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, CPiV-2	Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Deutschland	14.04.2016
Eurican® DAPPi-L	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CAG2, Stoffmenge ≥ 10 <sup>7.1</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, CPiV-2, Leptospiren- Serovare	Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Deutschland	13.03.2002
Eurican® DAPPi- Lmulti	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CAG2, Stoffmenge 10 <sup>4.9</sup> bis 10 <sup>7.1</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, CPiV-2, Leptospiren- Serovare	Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Deutschland	14.09.2015
Eurican® DAPPi-LR	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CAG2, Stoffmenge 10 <sup>4.9</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, CPiV-2, Leptospiren- Serovare, Tollwutvirus	Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Deutschland	23.10.2013
Nobivac® SHP	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm 154, Stoffmenge 10 <sup>7.0</sup> bis 10 <sup>8.4</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2	Intervet Deutschland GmbH, Deutschland	12.09.2001
Nobivac® SHPPi	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm 154, Stoffmenge 10 <sup>7.0</sup> bis 10 <sup>8.4</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, CPiV-2	Intervet Deutschland GmbH, Deutschland	12.09.2001
Nobivac® SP	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm 154, Stoffmenge 10 <sup>7.0</sup> bis 10 <sup>8.3</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV	Intervet Deutschland GmbH, Deutschland	29.08.2005
RIVAC® SHPPi+3L T	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CPV-Bio 12, Stoffmenge 10 <sup>4.5</sup> bis 10 <sup>6.1</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, CPiV-2, Leptospiren- Serovare, Tollwutvirus	Ecuphar N. V., Belgien	06.04.2012

**Fortsetzung Tabelle 6:**

<b>Kombinationsimpfstoffe (Teil II)</b>				
<b>Name</b>	<b>Art des Impfstoffs</b>	<b>weitere Bestandteile</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Zulassungsdatum</b>
Vanguard <sup>®</sup> 7	lebend, attenuiertes CPV-2 Stamm NL-35-D, Stoffmenge 10 <sup>7.0</sup> bis 10 <sup>8.5</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, CPiV-2, Leptospiren- Serovare	Zoetis Deutschland GmbH, Deutschland	02.01.2006
Versican <sup>®</sup> Plus DHP	lebend, attenuiertes CPV-2b, Stamm CPV- 2b-Bio 12/B, Stoffmenge 10 <sup>4.3</sup> bis 10 <sup>6.6</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2	Zoetis Deutschland GmbH, Deutschland	04.04.2016
Versican <sup>®</sup> Plus DHPPi	lebend, attenuiertes CPV-2b, Stamm CPV- 2b-Bio 12/B, Stoffmenge 10 <sup>4.3</sup> bis 10 <sup>6.6</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, CPiV-2	Zoetis Belgium S. A., Belgien	04.07.2014
Versican <sup>®</sup> Plus DHPPi/L4	lebend, attenuiertes CPV-2b, Stamm CPV- 2b-Bio 12/B, Stoffmenge 10 <sup>4.3</sup> bis 10 <sup>6.6</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, CPiV-2, Leptospiren- Serovare	Zoetis Belgium S. A., Belgien	07.05.2014
Versican <sup>®</sup> Plus DHPPi/L4 R	lebend, attenuiertes CPV-2b, Stamm CPV- 2b-Bio 12/B, Stoffmenge 10 <sup>4.3</sup> bis 10 <sup>6.6</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, CPiV-2, Leptospiren- Serovare, Tollwutvirus	Zoetis Belgium S. A., Belgien	07.05.2014
Versican <sup>®</sup> Plus DP	lebend, attenuiertes CPV-2b, Stamm CPV- 2b-Bio 12/B, Stoffmenge 10 <sup>4.3</sup> bis 10 <sup>6.6</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV	Zoetis Deutschland GmbH, Deutschland	04.04.2016
Virbagen <sup>®</sup> canis SHAP	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CPV780916, Stoffmenge 10 <sup>5.0</sup> bis 10 <sup>7.0</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2	VIRBAC Tierarzneimittel GmbH, Deutschland	22.12.2005
Virbagen <sup>®</sup> canis SHAP/L	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CPV780916, Stoffmenge 10 <sup>5.0</sup> bis 10 <sup>7.0</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, Leptospiren- Serovare	VIRBAC Tierarzneimittel GmbH, Deutschland	21.12.2005
Virbagen <sup>®</sup> canis SHAP/LT	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CPV780916, Stoffmenge 10 <sup>5.0</sup> bis 10 <sup>7.0</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, Leptospiren- Serovare, Tollwutvirus	VIRBAC Tierarzneimittel GmbH, Deutschland	21.12.2005
Virbagen <sup>®</sup> canis SHAPPi	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CPV780916, Stoffmenge 10 <sup>5.0</sup> bis 10 <sup>6.8</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, CPiV-2	VIRBAC S. A., Frankreich	22.07.2016
Virbagen <sup>®</sup> canis SHAPPi/L	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CPV780916, Stoffmenge 10 <sup>5.0</sup> bis 10 <sup>6.8</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, CPiV-2, Leptospiren- Serovare	VIRBAC S. A., Frankreich	16.12.2015
Virbagen <sup>®</sup> canis SHAPPi/L T	lebend, attenuiertes CPV-2, Stamm CPV780916, Stoffmenge 10 <sup>5.0</sup> bis 10 <sup>7.0</sup> GKID <sub>50</sub>	CDV, CAV-2, CPiV-2, Leptospiren- Serovare, Tollwutvirus	VIRBAC Tierarzneimittel GmbH, Deutschland	20.12.2005

<sup>®</sup>: registered trademark (registrierte Warenmarke), ≥: Vergleichszeichen: größer oder gleich als,  
CAV-2: canines Adenovirus-2, CDV: canine distemper virus (canines Staupevirus), CPiV-2:  
canines Parainfluenzavirus-2, CPV-2: canines Parvovirus-2, CPV-2b: canines Parvovirus-2b,  
GKID<sub>50</sub>: Gewebekultur-infektiöse Dosis 50 %.

### 2.1.3. Unterschiede von modifizierten Lebendvakzinen und Impfstoffen aus inaktiviertem Virus

Die relativen Vor- und Nachteile von MLV und Impfstoffen aus inaktiviertem Virus sind in der Literatur vielfach beschrieben (THOMSEN, 1975; DESMETTRE & MARTINOD, 1997a; POVEY & CARMAN, 1997b; VAN OIRSCHOT, 1997b; DODDS, 2002; GREENE & LEVY, 2012; TIZARD, 2018h). Tabelle 7 bietet einen Überblick über die wichtigsten Aspekte, wobei der jeweilige Vorteil des einen Impfstofftyps jeweils als Nachteil des anderen Impfstofftyps zu verstehen ist (Tabelle 7).

**Tabelle 7: Vor- und Nachteile von modifizierten Lebendvakzinen und Impfstoffen aus inaktiviertem Virus (in Anlehnung an DESMETTRE & MARTINOD, 1997a; POVEY & CARMAN, 1997b; VAN OIRSCHOT, 1997b; TIZARD, 2018h)**

Merkmal	MLV	Impfstoff aus inaktiviertem Virus
<b>Sicherheit</b>		
keine Residualvirulenz		+
keine Fetopathie und Immunsuppression		+
keine inkomplette Inaktivierung	+	+
keine Virulenzreversion		+
keine Persistenz		+
keine Ausscheidung/Transmission		+
keine Rekombination mit Feldvirus		+
keine Kontamination mit Fremdstoffen		+
Adjuvansfreiheit	+	
keine lokalen und systemischen Nebenwirkungen	+	
<b>Effektivität</b>		
hohes Level der Immunität (Stimulation von humoraler, zellmediierter und mukosaler Immunantwort)	+	
früher Eintritt der Immunität	+	
lange Dauer der Immunität	+	
geringe Frequenz von Auffrischungsimpfungen	+	
mögliche mukosale Applikation	+	
<b>Komfort bei der Anwendung</b>		
hohe Stabilität bei Handhabung und Lagerung		+
kein Erfordernis zur Rekonstitution		+
Einzelimpfdosis häufig ausreichend	+	
<b>Kosten</b>		
niedrige Produktionskosten	+	
niedrige Entwicklungskosten		+

+: Vorteil, MLV: modified live vaccine (modifizierte Lebendvakzine).

#### 2.1.3.1. Wirksamkeit und Sicherheit

MLV enthalten attenuiertes, also in seiner Virulenz abgeschwächtes, aber noch vermehrungsfähiges CPV (CARMICHAEL, 1999). So können in Folge einer

aktiven Replikation kleine Mengen an CPV-DNA im Blut geimpfter Hunde über einen Zeitraum von mindestens zwei Wochen nachgewiesen werden (VEIR et al., 2009). Die Attenuierung wird durch serielle Passage eines nativen Virusisolats in nicht-adaptierten Zellen oder heterologen Wirten oder aber durch gezielte Selektion temperaturempfindlicher Mutanten oder Reassortierung zweier ähnlicher Viren erreicht (ELLIS, 1999; VAN KAMPEN, 2001; GREENE & LEVY, 2012; DAY & SCHULTZ, 2014m; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017; TIZARD, 2018h). MLV zur Impfung gegen CPV werden traditionell in Zellkulturen, wie Lungenzellen vom Nerz oder Nierenzellen von Hund oder Katze, oft unter suboptimalen Temperaturen unterhalb der physiologischen Körpertemperatur von Hunden, hergestellt (CARMICHAEL et al., 1981a; CARMICHAEL et al., 1981b; PARRISH et al., 1988b; MCGAVIN & LAVIDIS, 1991; PARRISH et al., 1996). Dabei akkumuliert das Virus Nukleotidsubstitutionen in seinem Genom, was letztendlich zur gewünschten Attenuierung führt (BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017). Um die Eigenschaft der Erreger nicht zu verändern, muss die Anzucht unter extrem kontrollierten Bedingungen erfolgen (SCHWANIG & LÖWER, 2005; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b). Allerdings hat sich das „Saatgutprinzip“ bei der Herstellung von CPV-MLV als nicht sehr zuverlässig erwiesen. So setzen sich nach einigen Passagen häufig Mutanten durch, die nur wenig immunogen sind (PARRISH et al., 1988b; CARMICHAEL, 1997, 1999). Daher muss darauf geachtet werden, ein geeignetes Saatvirus herauszuarbeiten indem gezielt diejenigen Klone ausgewählt werden, die sich als immunogen und zugleich stabil während der anschließenden Zellkulturpassage erweisen (CARMICHAEL, 1999). Dies führte zur Entwicklung neuer MLV (CARMICHAEL, 1997), u. a. auf Basis von Isolaten jüngerer antigenere Varianten (PARRISH, 1991). Dabei gilt es, ein Gleichgewicht zwischen maximaler Immunogenität auf der einen Seite und minimaler Virulenz auf der anderen Seite zu finden (TIZARD, 1990; ELLIS, 1999; DODDS, 2002; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b; TIZARD, 2018h). Um eine effektive Immunität zu induzieren, muss das Impfvirus noch immer ausreichend im Wirt replizieren (VAN OIRSCHOT, 1997b; ROTH, 1999; VAN KAMPEN, 2001; GREENE & LEVY, 2012). Daher kann es manchmal nötig sein, einen Virusstamm zu wählen, der bei einigen Hunden noch erkennbare, wenn auch milde klinische Symptome auslöst. Andererseits kann eine ungenügende Attenuierung eine schwere induzierte Erkrankung zur Folge haben, insbesondere



wenn der Impfstoff nicht strikt nach den Anwendungsempfehlungen eingesetzt wird (ROTH, 1999). Durch eine Serie an Rückpassagen (empfohlen werden mindestens fünf Passagen in vivo) muss dargelegt werden, dass die Attenuierung stabil ist und keine Virulenzreversion des Impfstamms auftritt (DESMETTRE & MARTINOD, 1997b, 1997f; LUCKEN & STOLP, 1997a; MARTINOD, 1997; POVEY & CARMAN, 1997g; DAY et al., 2016). Ungeachtet vom Erfolg empirisch entwickelter CPV-MLV könnten gentechnische Verfahren das „genetische Roulette“ bei der Entwicklung geeigneter Impfstämme eindämmen und durch gezielte Rekombination oder Deletion stabile Mutanten erzeugen (BABIUK, 1997b; HORZINEK et al., 1997a; POVEY & CARMAN, 1997g; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017). Der Zulassungsprozess gentechnisch veränderter Impfstoffe kann jedoch sehr viel komplizierter und langwieriger sein als der für traditionelle MLV (BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017).

Der entscheidende Vorteil von MLV besteht darin, dass eine Infektion mit virulentem CPV im „Kleinen“ imitiert wird, ohne eine ernsthafte Erkrankung auszulösen (VAN OIRSCHOT, 1997b; GREENE et al., 2001; DAY & SCHULTZ, 2014m; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b). So können MLV neben der humoralen Immunität auch eine maximal lebenslange zelluläre Immunität induzieren. Sie sind damit Impfstoffen aus inaktiviertem Virus hinsichtlich Effizienz und DOI in aller Regel überlegen (DESMETTRE & MARTINOD, 1997a; HORZINEK et al., 1997a; VAN OIRSCHOT, 1997b; ELLIS, 1999; GREENE & LEVY, 2012). Dabei gilt die intrazelluläre Replikation und De-novo-Synthese von Antigenen als Schlüsselmechanismus, um nach adäquater Präsentation eine zytotoxische T-Zell-Antwort vom CD8-Typ auszulösen (KRETH, 2005; DAY & SCHULTZ, 2014m). Im Gegensatz zu Impfstoffen aus inaktiviertem Virus genügt bei MLV eine einzige Impfdosis, um eine langjährige Immunität zu induzieren (DESMETTRE & MARTINOD, 1997a; HORZINEK et al., 1997b; VAN OIRSCHOT, 1997b; DAY et al., 2016) und zugleich ein tragfähiges immunologisches Gedächtnis aufzubauen (KRETH, 2005). Auf Basis von Infektionsversuchen konnte für CPV-MLV eine Schutzwirkung von mindestens sieben Jahren ermittelt werden (SCHULTZ, 1999, 2006) (siehe auch 1.1.4.). Ein schneller Wirkungseintritt (DESMETTRE & MARTINOD, 1997a; VAN OIRSCHOT, 1997b; FORD, 2001a; GREENE et al., 2001; GREENE &

LEVY, 2012; DAY et al., 2016) ist ein weiterer gewichtiger Vorzug von MLV (siehe auch Abbildung 1). Ihre Anwendung wird deshalb besonders bei Hunden in Umgebungen mit hohem Infektionsdruck, z. B. in Tierheimen, empfohlen (CARMICHAEL, 1999; GREENE et al., 2001; GREENE & LEVY, 2012). Auch können MLV die Interferenz mit maternalen Antikörpern besser durchbrechen als Impfstoffe aus inaktiviertem Virus (GREENE & LEVY, 2012; SYKES, 2014a; DAY et al., 2016). Da MLV in der Regel ohne Adjuvantien und mit einem niedrigeren Antigengehalt auskommen, sind sie Impfstoffen aus inaktiviertem Virus hinsichtlich ihres allergenen und toxischen Potentials im Allgemeinen überlegen (VAN OIRSCHOT, 1997b).

Der größte Nachteil von MLV ist, dass eine Residualvirulenz verbleibt und eine Virulenzreversion, insbesondere durch Rekombination mit Feldstämmen, nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann (HORZINEK et al., 1997a; MARTINOD, 1997; POVEY & CARMAN, 1997g; VAN KAMPEN, 2001; DODDS, 2002; DAY & SCHULTZ, 2014m). Dadurch könnte es zu einer klinischen Erkrankung anstelle der gewünschten Schutzwirkung kommen (DAY & SCHULTZ, 2014m). MLV sind grundsätzlich zur Anwendung bei immunkompetenten, gesunden Hunden vorbehalten (MEYER, 2001; DODDS, 2002). Dabei wird „gesund“ in diesem Zusammenhang als „offensichtlich normal in allen Vitalfunktionen und frei von Krankheitsanzeichen“ definiert (ROTH, 1999). Es wurde angenommen, dass die Manifestation einer Residualvirulenz entscheidend von den Charakteristika des individuellen Hundes abhängt, und speziell die Anwendung bei immunsupprimierten Tieren, trächtigen Tieren oder perinatalen Welpen mit einem höheren Risiko einer impfinduzierten Erkrankung verbunden ist (MEYER, 2001; DODDS, 2002). So hatte beispielsweise die Anwendung von „alten“ MLV gegen CDV bei Hunden, die experimentell mit CPV infiziert wurden, eine Enzephalomyelitis zur Folge, die vermutlich aufgrund der immunsupprimierenden Wirkung des CPV begünstigt wurde (KRAKOWKA et al., 1982). Auch bei frühen Tollwut-MLV, die Mitte der 1970er bis Mitte der 1980er Jahre in den USA vermarktet wurden, konnten Fälle von impfinduzierter Tollwut bei elf Hunden, zwei Katzen und einem Fuchs nachgewiesen werden (WHETSTONE et al., 1984). Sicherheitsprobleme aufgrund der Residualvirulenz sind auch chargenabhängig beschrieben. So traten in verschiedenen Landesteilen Großbritanniens in den Jahren 1982/83 Fälle von Enzephalitiden bei Hunden auf, die mit einer bestimmten Charge

eines Kombinationsimpfstoffs geimpft worden waren. CDV-Impfvirus konnte im Gehirn eines betroffenen Hundes isoliert werden (CORNWELL et al., 1988). In einem anderen Fall mussten Impfstoffe mit attenuiertem CDV zurückgerufen werden, nachdem im Zeitraum von ein bis zwei Wochen nach der Impfung eine Häufung unerwünschter Reaktionen des zentralen Nervensystems (ZNS) beobachtet wurde (GLOYD, 1995). Für MLV, die sich heute auf dem Markt befinden, gibt es allerdings keine gesicherten Beweise dafür, dass diese tatsächlich ihre Pathogenität wiedererlangen können (EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b; STIKO VET AM FLI, 2017b). Dennoch wird speziell für CPV-MLV immer wieder eine Virulenzreversion diskutiert, da insbesondere Welpen um den Zeitpunkt der Impfung häufig Symptome einer Gastroenteritis entwickeln (DECARO et al., 2007b). Jedoch konnte in verschiedenen Untersuchungen gezeigt werden, dass die meisten Fälle von CPV-ähnlicher Gastroenteritis, die in einem zeitlichen Zusammenhang mit einer CPV-Impfung standen, mit der Ausscheidung von CPV-Feldvirus einhergingen und nicht durch das attenuierte Impfvirus verursacht wurden; dies passiert häufig, wenn die Impfung in der Inkubationsphase der caninen Parvovirose erfolgt ist (DECARO et al., 2007b; SUTTON et al., 2013; MIRANDA & THOMPSON, 2016a) (siehe auch 2.3.3.). Grundsätzlich wird eine Impfung in der Inkubationsphase einer impfpräventablen Krankheit hinsichtlich möglicher Impf- und Erkrankungskomplikationen als sicher angesehen. Laut Robert-Koch-Institut sind dabei keine negativen Auswirkungen auf den Krankheitsverlauf zu erwarten; mehr noch kann bei bestimmten Infektionen eine postexpositionelle Impfung den Krankheitsausbruch sogar verhindern oder den -verlauf abschwächen (ROBERT-KOCH-INSTITUT, 2012). Dagegen kann eine Impfung mit CPV-MLV in der Trächtigkeit zu Aborten oder Fetopathien, wie einer Myokarditis, führen (POVEY & CARMAN, 1997g). Zerebelläre Hypoplasien sind bei Katzenwelpen (KILHAM et al., 1971; SHARP et al., 1999) und Frettchen (KILHAM et al., 1967; DUENWALD et al., 1971) nach der Anwendung von Parvovirus-MLV während der Trächtigkeit beschrieben. Zerebelläre Hypoplasien oder eine CPV-Myokarditis können aber auch die Folge einer MLV-Impfung in zu jungem Alter sein (HAYES et al., 1979; POVEY & CARMAN, 1997f). Für eine sichere Anwendung sollten MLV daher erst ab der vierten bis sechsten Lebenswoche angewendet werden (LEWIS et al., 1973; POVEY & CARMAN, 1997f, 1997g; GREENE & LEVY, 2012; DAY et al., 2016; FORD et al., 2017). Die Herstellerangabe enthält

Informationen, ab welchem Alter eine sichere Impfung mit dem jeweiligen MLV-Produkt gewährleistet ist (HUSTEAD, 2001). Weiter sollte die angegebene Applikationsform und Zieltierart strikt beachtet werden (ROTH, 1999; HUSTEAD, 2001; MEYER, 2001). Es gibt einige Beispiele, bei denen MLV tödliche Erkrankungen bei anderen Tierarten verursachten (ROTH, 1999). So induzierten beispielsweise CDV-MLV schwere bis tödliche Erkrankungen bei zahlreichen Wildtieren, etwa Graufüchsen (HALBROOKS et al., 1981), afrikanischen Wildhunden (DURCHFELD et al., 1990), Schwarzfußiltissen (CARPENTER et al., 1976), Wickelbären (KAZACOS et al., 1981) oder kleinen Pandas (BUSH et al., 1976). Durch die Wahl einer Applikationsform, die nicht dem natürlichen Infektionsweg entspricht, wird die Replikation des Impfvirus zusätzlich verändert. So genügt für eine subkutane Injektion eine weniger starke Attenuierung des Impfvirus, als wenn dieses unmittelbar auf Zellen treffen würde, zu denen eine hohe natürliche Affinität besteht, wie z. B. Epithelzellen im Darm (GREENE & LEVY, 2012). Nach einer Impfung mit MLV können geringe Mengen an CPV-Impfvirus temporär mit dem Kot ausgeschieden werden und empfängliche Kontakttiere infizieren (CARMICHAEL et al., 1981a; CARMICHAEL et al., 1981b; CARMICHAEL et al., 1984; CHURCHILL, 1987; MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; MARTINOD, 1997; POVEY & CARMAN, 1997g; GREENE et al., 2001; DODDS, 2002; PRITTIE, 2004; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; GREENE & LEVY, 2012; DECARO et al., 2014; SYKES, 2014b; SYKES, 2014a; DAY et al., 2016). Auch diese können positive Reaktionen in direkten Nachweisverfahren zeigen, entwickeln aber keine klinische Erkrankung (GREENE et al., 2001; GREENE & LEVY, 2012). Somit wird die Ausscheidung von CPV-Impfvirus nicht als Risiko für andere Hunde gewertet (DAY et al., 2016) und könnte sogar zu deren aktiven Immunisierung beitragen (POVEY & CARMAN, 1997g; GREENE & LEVY, 2012). Einige Autoren vermuteten jedoch, dass eine Übertragung des ausgeschiedenen Impfvirus auf ungeschützte, immunsupprimierte oder artfremde Individuen ernsthafte Folgen haben könnte (MARTINOD, 1997; POVEY & CARMAN, 1997g; ELLIS, 1999; GREENE & LEVY, 2012). Allerdings wurde dies in der Realität bisher nie zweifelsfrei nachgewiesen. In der Literatur findet sich lediglich ein Fallbericht einer Labradorhündin, die drei Tage nach Geburt ihrer Welpen eine Boosterimpfung mit einer polyvalenten MLV erhalten hatte und deren Welpen 18 Tage später eine CDV-Enzephalitis entwickelten. Da nur einige der Welpen und nicht der gesamte Wurf erkrankten,

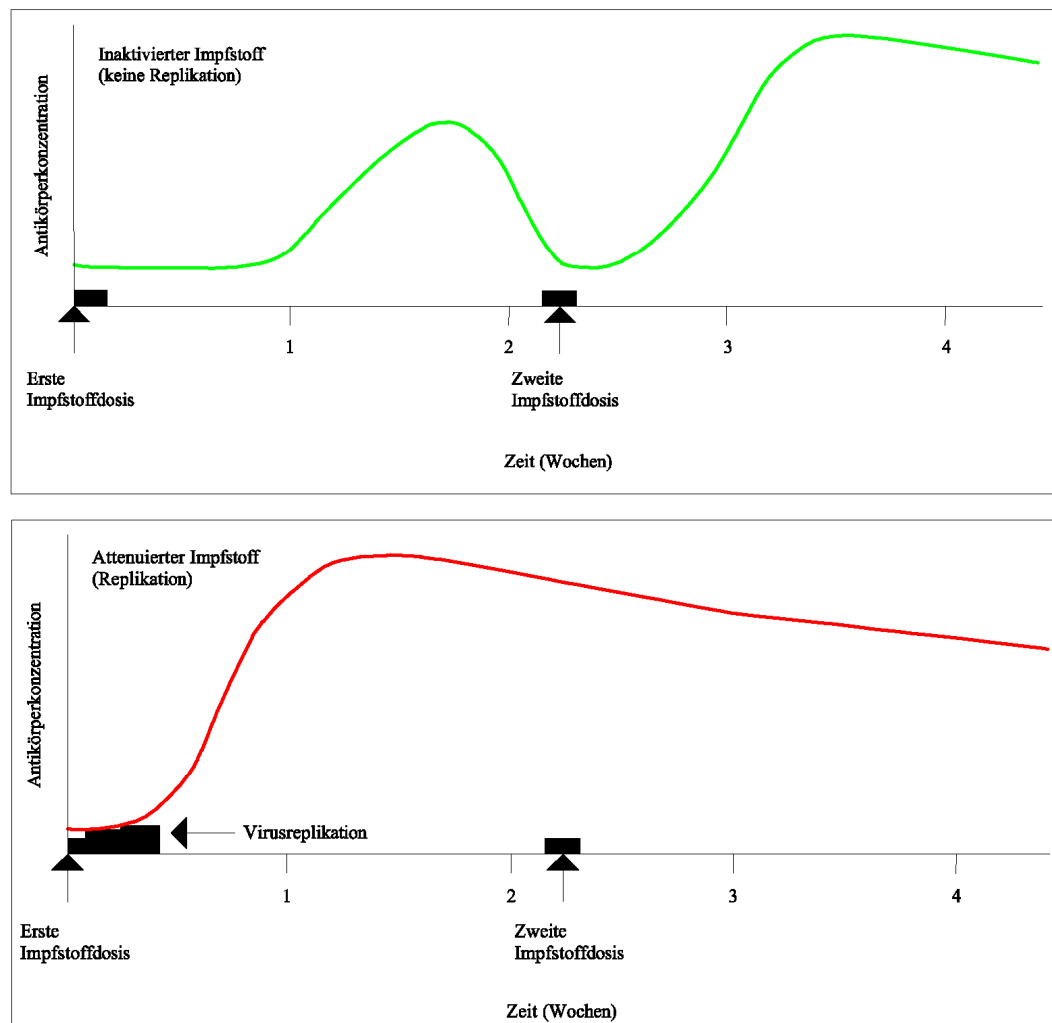
schlussfolgerten die Autoren, dass dies eher auf die Übertragung des ausgeschiedenen attenuierten CDV-Impfvirus zurückzuführen sei als auf eine Infektion mit einem pathogenen Feldvirus (MCCANDLISH et al., 1992). Fatale Konsequenzen der Virusausscheidung werden mitunter auch bei der Impfung einer nicht-vorgesehenen Tierart diskutiert. So könnte das ausgeschiedene Impfvirus durch multiple Passagen im nicht-attenuierten Wirt Virulenzgene erwerben, die dann sogar eine Krankheit bei der Tierart induzieren, für die der Impfstoff ursprünglich konzipiert war (DAY et al., 2016) (siehe auch 2.3.3.). Für die Hypothese, dass CPV aus einem FPV-Impfvirus hervorgegangen sein könnte, wurde, trotz aufwendiger molekularer Untersuchungen von Gewebeproben aus der Zeit der ersten caninen Parvovirosefälle in den Jahren 1978/79, bislang kein Beweis gefunden (TRUYEN et al., 1998). Gerade in jüngerer Zeit wird jedoch erneut eine mögliche Evolution neuer pathogener CPV-Stämme aus Impfstämmen erörtert; dies ist wesentlich auf die Isolation neuer Virusvarianten aus dem Kot erkrankter Hunde mit hoher Ähnlichkeit zum ursprünglichen CPV-2 (das heute nur mehr als Impfvirus vorkommt) zurückzuführen (DE OLIVEIRA et al., 2019).

Konventionelle Impfstoffe aus inaktiviertem Virus enthalten hohe Konzentrationen an abgetötetem CPV oder dessen immunogene Fraktionen (Antigene) in morphologisch kompletter Form (DESMETTRE & MARTINOD, 1997a; VAN OIRSCHOT, 1997a; BÜTTNER, 2007). Um die Vermehrungsfähigkeit der Viruspartikel zu unterbinden, werden meist Chemikalien eingesetzt (DESMETTRE & MARTINOD, 1997c; MARTINOD, 1997; ELLIS, 1999; BÜTTNER, 2007; DAY & SCHULTZ, 2014m; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b; TIZARD, 2018h). Diese dürfen jedoch die immunogenen Eigenschaften, die für die Stimulation der Immunantwort essentiell sind, möglichst nicht beeinträchtigen (HORZINEK et al., 1997a). So wurden für die Inaktivierung von CPV beispielsweise verdünntes Formaldehyd oder Alkylantien, wie  $\beta$ -Propiolacton oder binäres Ethylenimin, verwendet (APPEL & CARMICHAEL, 1980a; EUGSTER, 1980; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a; POVEY, 1982; SMITH & JOHNSON, 1986). Da Formalin die Immunogenität stärker beeinflusst und zudem starke Irritationen an der Injektionsstelle verursachen kann, wird der Verwendung von  $\beta$ -Propiolacton oder Ethylendiamin heute der Vorzug gegeben (GREENE & LEVY, 2012). Eine milde Denaturierung der Proteine kann auch durch Aceton oder Alkohol erzielt werden (TIZARD, 2018h).

Auch eine physikalische Inaktivierung etwa durch Elektronenstrahlen (ÄRZTE ZEITUNG ONLINE, 2019) oder ultraviolette Strahlung (LANGEVELD et al., 2001) ist möglich. Um den Verlust der Infektiosität sicherzustellen, sind umfangreiche Kontrollen notwendig (SCHWANIG & LÖWER, 2005; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b). So sollten pro Charge mindestens drei Inaktivierungskurven angefertigt werden (MARTINOD, 1997), wobei die Interpretation solcher Kurven herausfordernd sein kann (DREES, 1965). Im Zuge der Inaktivierung wird immer auch die Immunogenität des Impfvirus reduziert, insbesondere was die Fähigkeit anbelangt, eine virusspezifische zellmedierte und mukosale Immunantwort auszulösen (GREENE & LEVY, 2012; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b). Um die Immunstimulation zu verbessern, enthalten Impfstoffe aus inaktiviertem Virus deshalb meist hohe Konzentrationen an Antigen und zusätzliche Adjuvantien, die als Vehikel oder Immunmodulatoren fungieren (VOGEL & POWELL, 1995; DESMETTRE & MARTINOD, 1997a, 1997l; HORZINEK et al., 1997a, 1997b, 1997c; POVEY & CARMAN, 1997g; KRETH, 2005; SCHWANIG & LÖWER, 2005; GREENE & LEVY, 2012; SYKES, 2014a; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017; TIZARD, 2018i). Manche Adjuvantien sind in der Lage, eine zelluläre Immunität zu stimulieren. So gilt das Forschungsinteresse u. a. dem Zusatz von grünem Propolisextrakt und seiner zahlreichen bioaktiven Inhaltsstoffe, wie Artepillin C, Zimtsäurederivate und anderer Flavonoide (FISCHER et al., 2007a; FISCHER et al., 2007b). Durch den Zusatz des Ethanolextrakts aus grünem Propolis konnte bei Mäusen, die mit einer inaktivierten Vakzine gegen suides Herpesvirus-1 geimpft worden waren, eine Steigerung der zellmedierten Immunantwort erzielt werden (FISCHER et al., 2007b). Gewöhnlich stimulieren Totimpfstoffe jedoch nur die humorale Immunantwort mit engerem antigenen Spektrum (VAN OIRSCHOT, 1997a; ELLIS, 1999; GREENE & LEVY, 2012; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b). Je nach Formulierung kann durch die Adjuvantien und den höheren Gehalt an Proteinen auch das Risiko für unerwünschte Wirkungen ansteigen (HORZINEK et al., 1997a, 1997c; GREENE & LEVY, 2012; DAY & SCHULTZ, 2014m). So werden für adjuvanshaltige Impfstoffe häufiger lymphokinvermittelte inflammatorische Reaktionen an der Injektionsstelle (KRETH, 2005), wie Schmerzen, Schwellungen oder

Granulombildung, aber auch systemische Nebenwirkungen und Hypersensitivitätsreaktionen, beschrieben (DESMETTRE & MARTINOD, 1997a; MARTINOD, 1997; POVEY & CARMAN, 1997g; VAN OIRSCHOT, 1997b; VAN KAMPEN, 2001; DAY et al., 2007b; GREENE & LEVY, 2012) (siehe auch 2.3.1.1., 2.3.1.3.1., 2.3.1.5., 2.3.1.7. und 2.3.1.8.). Neuere Produkte, die etwa Subunitfraktionen des aufgereinigten Erregers oder synthetische Peptide aus genetischer Rekombination enthalten, gelten diesbezüglich als sicherer (SYKES, 2014a) und zugleich auch potenter (GREENE & LEVY, 2012).

Für einen langfristigen Immunschutz sind bei Impfstoffen aus inaktiviertem Virus in der Regel mehrere Impfdosen erforderlich (DESMETTRE & MARTINOD, 1997a; HORZINEK et al., 1997b; ELLIS, 1999; GREENE & LEVY, 2012; DAY & SCHULTZ, 2014m). Optimal für eine Erstimpfung sind zwei Applikationen in einem zeitlichen Abstand von etwa drei bis vier Wochen (VAN OIRSCHOT, 1997a; GREENE & LEVY, 2012; STIKO VET AM FLI, 2019), gefolgt von regelmäßigen Boosterimpfungen (DESMETTRE & MARTINOD, 1997a; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b) (siehe auch Abbildung 1). Eine maximale Immunität wird in der Regel zwei bis drei Wochen nach der zweiten Impfung erreicht, bevor es zu einem graduellen Abfall kommt (VAN OIRSCHOT, 1997a). Bei der Anwendung inaktivierter Vakzinen ist generell mit einer deutlich kürzeren DOI zu rechnen, sowie mit einer Schutzwirkung, die auf ein engeres antigenetisches Spektrum beschränkt ist (GREENE & LEVY, 2012; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017). Bei modernen inaktivierten CPV-Impfstoffen wird eine DOI von maximal drei Jahren angenommen (DAY et al., 2016). Durch Impfstoffe aus inaktiviertem Virus kann eine Übertragung von CPV-Feldvirus nicht immer sicher und v. a. nicht immer langfristig verhindert werden (EUGSTER, 1980; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a; POVEY et al., 1983; WALLACE & MCMILLEN, 1985; CARMICHAEL, 1999). Daher sind diese Impfstoffe nicht für den routinemäßigen Gebrauch empfohlen (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017); insbesondere bei hohem Infektionsdruck gelten sie als ungeeignet (CARMICHAEL, 1999; GREENE et al., 2001; SYKES, 2014b).



**Abbildung 1: Antikörperentwicklung nach Impfung mit MLV und Impfstoffen aus inaktiviertem Virus im Vergleich (in Anlehnung an GREENE & LEVY, 2012)**

Da eine Replikation ausgeschlossen ist, können Impfstoffe aus inaktiviertem Virus allerdings gewisse Vorteile bieten (GREENE & LEVY, 2012), wenn die Anwendung von MLV ausdrücklich kontraindiziert ist, z. B. bei der Impfung von Wildtieren (STEINEL et al., 2001) und Exoten (YILMA et al., 1997), oder auch bei trächtigen, immunsupprimierten, sehr jungen oder geschwächten Tieren (HORZINEK et al., 1997b; SMITH-CARR et al., 1997; GREENE & LEVY, 2012; SYKES, 2014a; STIKO VET AM FLI, 2017b). Allerdings sind auch Impfstoffe aus inaktiviertem Virus für diesen Einsatz nicht auf Sicherheit und Effektivität getestet (YILMA et al., 1997; DAY et al., 2016).

Durch den Inaktivierungsprozess bei der Herstellung ist das Risiko einer Kontamination durch Fremdorganismen für Impfstoffe aus inaktiviertem Virus im



Vergleich zu MLV deutlich geringer, wenn auch nicht ganz ausgeschlossen (VAN OIRSCHOT, 1997b; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017). MLV, die üblicherweise in großer Stückzahl produziert werden, gelten als sehr viel anfälliger gegenüber Kontaminationen (EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b), z. B. wenn unterschiedliche Produktionslinien hintereinander gefahren werden (DAY & SCHULTZ, 2014m). Auch infiziertes fetales Kälberserum (ERICKSON et al., 1991; POVEY & CARMAN, 1997g) oder infizierte Zellkulturen (WELLEMANS & VAN OPDENBOSCH, 1987; BOLIN et al., 1994a; BOLIN et al., 1994b; GREENE & LEVY, 2012) sind ein bekanntes Risiko. Prinzipiell lässt sich durch die Einhaltung der Richtlinien zur guten Herstellungspraxis die Gefahr einer Kontamination deutlich reduzieren (LUFF & SOULEBOT, 1997a, 1997b; VAN OIRSCHOT, 1997b). Zudem wird bei der Produktion standardmäßig auf Verunreinigungen durch Fremdorganismen, Bakterien, Pilze, Mykoplasmen und Fremdviolen (LUCKEN & STOLP, 1997a) untersucht (TIZARD, 2018i). Trotzdem sind Verunreinigungen von MLV mit Mykoplasmen (THORNTON, 1986; BENISHEVA et al., 1993; MARTINOD, 1997) oder Fremdviolen, wie BVD (WELLEMANS & VAN OPDENBOSCH, 1987; WENSVOORT & TERPSTRA, 1988; TIZARD, 1990; ERICKSON et al., 1991; BOLIN et al., 1994b) oder Blauzungenviolen (AKITA et al., 1994; EVERMANN et al., 1994; WILBUR et al., 1994), in der Literatur relativ häufig beschrieben. So kam es Anfang der 1990er Jahre trotz routinemäßiger Chargenkontrollen in verschiedenen Staaten der USA zu Aborten und Todesfällen bei trächtigen Hündinnen nach Anwendung von Kombinations-MLV, die mit dem Blauzungenviolen kontaminiert waren (AKITA et al., 1994; EVERMANN et al., 1994; WILBUR et al., 1994). Auch eine Kontamination mit CPV-Feldviolen wird aufgrund der Ubiquität, Resistenz und dem geringen zytopathischen Effekt des Erregers in vielen Zellkulturen als Risiko angeführt. Deshalb wird z. T. dazu geraten, auch diese Kontamination standardmäßig mithilfe von PCR oder anderer geeigneter Nachweisverfahren auszuschließen (SENDA et al., 1995). Sicherheitsprobleme mit Impfstoffen aus inaktiviertem Violen sind dagegen nur selten beschrieben und waren dann eher Folge der Toxizität der Adjuvantien als Folge einer Kontamination (VAN OIRSCHOT, 1997a).

### **2.1.3.2. Lagerung und Handling**

Bei den Anforderungen in Bezug auf Lagerung und Handling gibt es ebenfalls einige grundsätzliche Unterschiede zwischen MLV und Impfstoffen aus inaktiviertem Virus. Die lebenden Organismen in MLV verlieren schnell ihre Vermehrungsfähigkeit, insbesondere wenn sie Hitze, Frost oder exzessiver Sonneneinstrahlung ausgesetzt werden (SYKES, 2014a; BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017; TIZARD, 2018i). Um die Stabilität und Haltbarkeit zu erhöhen, werden MLV meist lyophilisiert (DESMETTRE & MARTINOD, 1997l; POVEY & CARMAN, 1997e; GREENE & LEVY, 2012; DAY & SCHULTZ, 2014m; TIZARD, 2018i). Ein Überschuss an Antigen ist eine weitere Möglichkeit, die zu erwartende Qualitätsminderung (auch bei Impfstoffen aus inaktiviertem Virus) auszugleichen (GREENE & LEVY, 2012; TIZARD, 2018i). Trotzdem sind die Einhaltung der Kühlkette und ein sorgsames Handling essentiell, um die Wirksamkeit zu gewährleisten (DESMETTRE & MARTINOD, 1997a; HORZINEK et al., 1997a; POVEY & CARMAN, 1997h; SPIESS & HEININGER, 2005; DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2018; TIZARD, 2018i). Temperatur-Indikatorsysteme geben Rückschluss über die Kühlkette während der Auslieferung (DAY et al., 2016). Nach Rekonstitution sollten Impfstoffe innerhalb von ein bis zwei Stunden verabreicht werden (POVEY & CARMAN, 1997h; DAY et al., 2016). Obwohl es keinen Beweis gibt, dass durch eine topische Desinfektion der Haut die Lebensfähigkeit subkutan injizierter MLV beeinträchtigt werden kann (GREENE & LEVY, 2012), sollte auf die Anwendung von Alkohol oder anderen Desinfektionsmitteln an der Injektionsstelle besser verzichtet werden (POVEY & CARMAN, 1997h; DAY et al., 2016; FORD et al., 2017). Im Vergleich zu MLV sind Impfstoffe aus inaktiviertem Virus weitaus stabiler gegenüber äußeren Einflüssen (DESMETTRE & MARTINOD, 1997a; VAN OIRSCHOT, 1997b; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b) und müssen für die Anwendung im Allgemeinen nicht mehr rekonstituiert werden (TIZARD, 2018i). Grundsätzlich ist darauf zu achten, Produkte mit attenuiertem und inaktiviertem CPV bei der Grundimmunisierung nicht im Wechsel zu verwenden. Insbesondere sollten MLV nicht kurz nach einer Impfung mit inaktivierten Impfstoffen eingesetzt werden, da die vorangegangene Antikörperantwort zu einer Neutralisierung des Impfantigens führen kann (CARMICHAEL, 1999; DAY et al., 2016).

### 2.1.3.3. Kosten

Im Vergleich zur Herstellung von Totimpfstoffen, welche umfangreiche Kontrollen zum Ausschluss der Restinfektiosität, eine aufwendige Reinigung des Antigens und den Zusatz immunitätssteigernder Adjuvantien erfordert, ist die Produktion von MLV, abgesehen von der Haltbarmachung, relativ unkompliziert. Da es für eine erfolgreiche Immunisierung nur geringe Mengen des attenuierten Erregers bedarf, können aus vergleichbaren Produktionsmengen bis zu 100-mal mehr Impfdosen hergestellt werden als bei Totimpfstoffen. Nicht zuletzt macht auch die Tatsache, dass sie eine langlebige Immunität ohne häufige Auffrischungsimpfungen induzieren können, die Anwendung von MLV vergleichsweise kostengünstig (SCHWANIG & LÖWER, 2005; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b).

## 2.2. Impfleitlinien

Seit der Markteinführung kommerzieller Impfstoffe wird die Impfpraxis in der Tiermedizin beständig diskutiert (CARMICHAEL, 1999; FORD, 2001a; FORD, 2001b; MOORE & GLICKMAN, 2004; DAY, 2006; HORZINEK, 2006; BÖHM, 2009; PATEL & HELDENS, 2009; DAY, 2011). Gemäß dem erklärten Ziel „*to administer the most appropriate vaccine(s) at the most appropriate stage of life and to do so with the best product(s) available*“ (GREENE et al., 2001) werden Leitlinien zur Impfung von Hunden von verschiedenen internationalen und nationalen Expertengruppen herausgegeben und in regelmäßigen Abständen nach den neuesten wissenschaftlichen Erkenntnissen überarbeitet (MARTINOD, 1999). Diese sollen als fachlich fundierte, evidenzbasierte Entscheidungshilfe und nicht als starres, verbindliches Dogma verstanden werden (THIRY & HORZINEK, 2007; DAY, 2011; DAY et al., 2016; STIKO VET AM FLI, 2019). Stellenweise treten auch Diskrepanzen zu den Anwendungsempfehlungen der Impfstoffhersteller auf, etwa was die empfohlenen Intervalle von Wiederholungsimpfungen anbelangt. Dabei kann in der Theorie ein Abweichen von den Gebrauchsinformationen im Zweifelsfall ein Erlöschen der Herstellergewährleistung mit einem Übergang des Behandlungsrisikos auf den anwendenden Tierarzt zur Folge haben (DAY et al., 2016; STIKO VET AM FLI, 2019). Expertengremien gelten jedoch als übergeordnete Institutionen und geben dem Tierarzt auch rechtliche Sicherheit im Falle einer Abweichung von der Gebrauchsinformation (EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015b).

Auf internationaler Ebene geben zwei führende Expertengruppen Leitlinien zur Impfung von Hunden heraus: (1) die Canine Vaccination Task Force der American Animal Hospital Association (AAHA) (PAUL et al., 2003; PAUL et al., 2006; WELBORN et al., 2011; FORD et al., 2017) und (2) die Vaccine Guidelines Group der World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) (DAY et al., 2007a, 2010; DAY et al., 2016).

Auf nationaler Ebene erarbeitet die Ständige Impfkommision Veterinärmedizin (StIKo Vet), die seit der Novellierung des Tiergesundheitsgesetzes im Jahr 2014 am Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, angesiedelt ist, regelmäßig eine Leitlinie zur Impfung Kleintieren (STIKO VET AM FLI, 2019). Diese wird ergänzt durch Stellungnahmen zur Impfung von immunsupprimierten und alten Patienten (STIKO VET AM FLI, 2017b) und zur Impfung nach Antikörperbestimmung (STIKO VET AM FLI, 2017a) sowie durch Empfehlungen zur guten Impfpraxis (STIKO VET AM FLI, 2018).

In den letzten Jahren haben sich signifikante Änderungen in den Empfehlungen zur Impfung gegen canine Parvovirose ergeben (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2017a, 2017b, 2019). Eine Übersicht der aktuellen Leitlinien der oben genannten Expertengruppen ist in Tabelle 8 dargestellt (Tabelle 8).

**Tabelle 8: Leitlinien zur Impfung von Hunden gegen canine Parvovirose**

	<b>AAHA</b>	<b>WSAVA</b>	<b>StlKo Vet</b>
<b>Publikation</b>	<b>FORD et al., 2017</b>	<b>DAY et al., 2016</b>	<b>STIKO VET AM FLI, 2017a, 2017b, 2019</b>
<b>Region</b>	USA	International	Deutschland
<b>Einstufung der Impfung</b>	Core	Core	Core
<b>Empfohlene Impfstoffe</b>	MLV	MLV; Impfstoffe aus inaktiviertem Virus ausdrücklich nicht empfohlen, wenn MLV verfügbar	MLV oder Impfstoffe aus inaktiviertem Virus
<b>Erstimpfung von Welpen</b>	ab einem Alter von 6 W mehrere aufeinanderfolgende Impfungen mit MLV im Abstand von 2 bis 4 W bis zu einem Alter von mindestens 16 W, bei erhöhtem Infektionsrisiko und/oder hohen MDA bis zu einem Alter von 18 bis 20 W; bei Erstimpfung im Alter von 16 W Wiederholung im Abstand von 2 bis 4 W	Impfung mit MLV im Alter von 6 bis 8 W, anschließend alle 2 bis 4 W bis zu einem Alter von mindestens 16 W	Impfung im Alter von 8, 12 und 16 W; in gefährdeten Beständen zusätzliche Impfung im Alter von 6 W
<b>Erstimpfung von Hunden älter als 16 Wochen</b>	ab einem Alter von 20 W einmalige Impfung mit MLV; bei einem Alter zwischen 16 und 20 W <u>und</u> erhöhtem Infektionsrisiko zweimalige Impfung im Abstand von 2 bis 4 W	einmalige Impfung mit MLV	ab einem Alter von 16 W einmalige Impfung mit MLV oder zweimalige Impfung mit inaktiviertem Virus im Abstand 3 bis 4 W
<b>Erste Auffrischungsimpfung (alle Hunde)</b>	innerhalb von 1 J nach der letzten Impfung im Rahmen der Erstimpfung mit MLV	im Alter zwischen 6 und 12 M mit MLV	im Alter von 15 M (1 J nach der Erstimpfung)
<b>Anschließende Wiederholungsimpfungen (alle Hunde)</b>	im Abstand von 3 J oder länger mit MLV	im Abstand von 3 J oder länger mit MLV	alle 3 J
<b>Adulte Hunde mit unbekanntem Impfstatus oder unvollständiger Erstimpfung</b>	ab einem Alter von 20 W einmalige Impfung mit MLV; anschließende Wiederholungsimpfungen mit MLV im Abstand von 3 J oder länger	einmalige Impfung mit MLV; anschließende Wiederholungsimpfungen mit MLV im Abstand von 3 J oder länger	einmalige Impfung mit MLV oder zweimalige Impfung mit inaktiviertem Virus im Abstand von 3 bis 4 W; erste Auffrischungsimpfung 1 J nach der Erstimpfung; anschließende Wiederholungsimpfungen alle 3 J

**Fortsetzung Tabelle 8:**

	<b>AAHA</b>	<b>WSAVA</b>	<b>StlKo Vet</b>
<b>Adulte Hunde mit überfälliger Wiederholungsimpfung</b>	ab einem Alter von 20 W einmalige Impfung mit MLV; anschließende Wiederholungsimpfungen mit MLV im Abstand von 3 J oder länger	einmalige Impfung mit MLV; anschließende Wiederholungsimpfungen mit MLV im Abstand von 3 J oder länger	einmalige Impfung; anschließende Wiederholungsimpfungen alle 3 J
<b>Welpen in Tierheimen</b>	Erstimpfung mit MLV bei unbekanntem Impfstatus ab einem Alter von 4 W vor oder zum Zeitpunkt der Aufnahme; anschließend mehrere aufeinanderfolgende Impfungen im Abstand von 2 bis 3 W bis zu einem Alter von 18 bis 20 W	Erstimpfung mit MLV bei unbekanntem Impfstatus ab einem Alter von 4 W vor oder zum Zeitpunkt der Aufnahme; anschließend mehrere aufeinanderfolgende Impfungen im Abstand von 2 W bis zu einem Alter von 20 W	Erstimpfung bei unbekanntem Impfstatus zum Zeitpunkt der Aufnahme; anschließend mehrere aufeinanderfolgende Impfungen im Abstand von 2 bis 4 W bis zu einem Alter von 16 W; bei hohem Infektionsdruck, unbekanntem Immunstatus oder Krankheit passive Immunisierung zum Zeitpunkt der Aufnahme, Impfung frühestens 3 W nach Verabreichung des Immunserums
<b>Adulte Hunde in Tierheimen</b>	Erstimpfung mit MLV bei unbekanntem Impfstatus ab einem Alter von 18 W zum Zeitpunkt der Aufnahme; anschließend einmalige Wiederholung im Abstand von 2 bis 3 W	Erstimpfung mit MLV bei unbekanntem Impfstatus vor oder zum Zeitpunkt der Aufnahme; anschließend einmalige Wiederholung im Abstand von 2 W	Erstimpfung bei unbekanntem Impfstatus zum Zeitpunkt der Aufnahme; bei Verwendung von Impfstoffen aus inaktiviertem Virus anschließend einmalige Wiederholung im Abstand von 3 bis 4 W; bei hohem Infektionsdruck, unbekanntem Immunstatus oder Krankheit passive Immunisierung zum Zeitpunkt der Aufnahme, Impfung frühestens 3 W nach Verabreichung des Immunserums

**Fortsetzung Tabelle 8:**

	<b>AAHA</b>	<b>WSAVA</b>	<b>StlKo Vet</b>
<b>Tragende Hündinnen</b>	keine MLV; Impfstoffe aus inaktiviertem Virus in absoluten Ausnahmefällen (z. B. bei ungeimpften Hündinnen in Tierheimen und Gefahr eines Krankheitsausbruchs)	keine MLV; Impfstoffe aus inaktiviertem Virus in absoluten Ausnahmefällen (z. B. bei ungeimpften Hündinnen in Tierheimen und Gefahr eines Krankheitsausbruchs)	k. A.
<b>Laktierende Hündinnen</b>	k. A.	k. A.	k. A.
<b>Welpen</b>	MLV nicht bei Welpen unter 4 W	MLV nicht bei Welpen unter 4 bis 6 W	k. A.
<b>Hunde mit Glukokortikoidtherapie</b>	bei kurzzeitiger Anwendung (über Tage, selbst in hohen Dosen) keine Beeinträchtigung des Impferfolges zu erwarten; bei langzeitiger Anwendung (über Jahre) Wiederholungsimpfung 2 bis 4 W nach Therapieende oder Antikörpermessung 2 bis 4 W nach der Impfung	keine Beeinträchtigung des Impferfolges zu erwarten, dennoch Wiederholungsimpfung frühestens 2 W nach Therapieende empfohlen	Impfung möglichst vermeiden oder bei akuter Infektionsgefahr passive Immunisierung durchführen; bei Anwendung unter 2 W: Impfung erst nach Therapieende; bei Anwendung über 2 W: Impfung erst 3 M nach Therapieende; bei dauerhafter Anwendung: Impfung wenn möglich nur mit Impfstoffen aus inaktiviertem Virus entsprechend dem allgemeinen Impfschema mit anschließender Kontrolle des Impferfolges durch Antikörpermessung

**Fortsetzung Tabelle 8:**

	<b>AAHA</b>	<b>WSAVA</b>	<b>StlKo Vet</b>
<b>Hunde mit immunsuppressiver oder zytotoxischer Therapie (außer Glukokortikoide)</b>	keine MLV bei kranken Hunden; grundsätzlich Beeinträchtigung des Impferfolges zu erwarten; Antikörpermessung 2 bis 4 W nach der Impfung	keine MLV bei kranken Hunden; bei Impfstoffen aus inaktiviertem Virus Beeinträchtigung des Impferfolges oder Triggern der Erkrankung zu erwarten	bei Therapie mit Ciclosporin: reguläre Wiederholungsimpfungen entsprechend dem allgemeinen Impfschema; neue Grundimmunisierung nur vor Therapiebeginn oder nach Therapieende; bei akuter Infektionsgefahr passive Immunisierung;  bei Chemotherapie: idealerweise Messung von Antikörpern; keine Impfung bei tumorassoziierter Neutropenie, Störungen der Antikörperproduktion und schlechtem Allgemeinzustand; Impfung frühestens nach Beendigung des ersten Therapiezyklus; ggf. häufigere Impfungen (z. B. jährlich) in Betracht ziehen
<b>Hunde mit Diabetes mellitus und Morbus Cushing</b>	k. A.	k. A.	Impfung erst nach guter Einstellung entsprechend dem allgemeinen Impfschema; bei akuter Infektionsgefahr oder schlecht kontrollierter Erkrankung passive Immunisierung
<b>Geriatrische Hunde</b>	k. A.	jährliche Antikörpermessung	reguläre Wiederholungsimpfungen entsprechend dem allgemeinen Impfschema; bei neuer Grundimmunisierung zweimalige Impfung im Abstand von 3 bis 4 W auch bei MLV

AAHA: American Animal Hospital Association, et al.: et alii (und andere), ggf.: gegebenenfalls, J: Jahr(e), k. A.: keine Angabe, MDA: maternally derived antibodies (maternale Antikörper), MLV: modified live vaccine (modifizierte Lebendvaccine), StlKo Vet: Ständige Impfkommision Veterinärmedizin am Friedrich-Loeffler-Institut, USA: United States of America (Vereinigte Staaten von Amerika), W: Woche(n), WSAVA: World Small Animal Veterinary Association, z. B.: zum Beispiel.



Entsprechend der Maßgabe „*Mehr Tiere impfen, [aber] das einzelne Tier [nur] so häufig wie nötig*“ (SCHULTZ, 1998; STIKO VET AM FLI, 2019) werden Impfungen beim Hund in die Kategorien „core“, „non-core“ oder „not recommended“ eingeordnet. Dabei sind „Core-Komponenten“ grundsätzlich für alle Hunde empfohlen. Sie sind gegen Erreger gerichtet, die ein besonders hohes Gefährdungspotential für die Hundepopulation oder den Menschen besitzen, also schwere bis lebensbedrohliche Erkrankungen verursachen, dabei weitverbreitet und leicht übertragbar sind oder zoonotischen Charakter haben. Dagegen sind „Non-Core-Komponenten“ gegen Erreger gerichtet, die abhängig von Umgebung oder Lebensumständen für einzelne Tiere von Bedeutung sind. Sie können entsprechend einer Nutzen-Risiko-Abwägung für den individuellen Hund angezeigt sein. Bei CPV sind sich die Expertengruppen einig, dass jeder Hund zu jedem Zeitpunkt geschützt sein sollte, was eine Klassifizierung als „Core-Impfung“ in allen Leitlinien begründet (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2019).

Die Wichtigkeit einer korrekten und vollständigen Grundimmunisierung für einen adäquaten Immunschutz gegen CPV wird in allen Leitlinien betont. So sollten Welpen nach Empfehlung der AAHA und der WSAVA ihre Erstimpfung bereits ab einem Alter von sechs Wochen erhalten (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017). Nach Auffassung der StIKo Vet ist diese frühe Impfung nur in gefährdeten Beständen indiziert; sie empfiehlt die erste reguläre Impfung in der achten Lebenswoche (STIKO VET AM FLI, 2019). Danach sollten gemäß aller Leitlinien mehrmalige Wiederholungsimpfungen im Abstand von zwei bis vier Wochen die Erstimpfung von Welpen bis zur mindestens 16. Lebenswoche abschließen (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2019). Darüber hinausgehend rät die AAHA, bei erhöhtem Infektionsrisiko und/oder hohen MDA, die Erstimpfung bis zur 18. oder sogar 20. Lebenswoche auszudehnen (FORD et al., 2017). Wie viele Impfdosen ein Welpen also im Rahmen der Erstimpfung erhält, kann je nach Alter bei der ersten Impfung und dem Intervall der anschließenden Wiederholungsimpfungen unterschiedlich sein. Für Welpen in Tierheimen gelten aufgrund des potentiell hohen Infektionsdrucks grundsätzlich andere Empfehlungen. So sollten Welpen mit unbekanntem Impfstatus bereits ab einem Alter von vier Wochen zum Zeitpunkt der Aufnahme geimpft werden. Auch für die anschließenden Wiederholungsimpfungen gibt es besondere Vorgaben. Diese

werden bei der WSAVA alle zwei Wochen bis zur 20. Lebenswoche, bei der AAHA alle zwei bis drei Wochen bis zur 18. bis 20. Lebenswoche und bei der StIKo Vet, je nach Infektionslage, alle zwei bis vier Wochen bis zur 16. Lebenswoche empfohlen (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2019). Bei besonders hohem Infektionsdruck, unbekanntem Immunstatus oder Krankheit kann entsprechend der Empfehlung der StIKo Vet zum Zeitpunkt der Aufnahme auch eine passive Immunisierung angezeigt sein (STIKO VET AM FLI, 2019).

Ab der 16. Lebenswoche wird als Erstimpfung generell nur noch eine einmalige Impfung mit einem modifizierten Lebendimpfstoff empfohlen. Alternativ ist nach der StIKo Vet auch eine zweimalige Gabe eines inaktivierten Impfstoffs im Abstand von drei bis vier Wochen möglich (STIKO VET AM FLI, 2019). Die WSAVA und die AAHA dagegen raten grundsätzlich nur mehr zur Verwendung von MLV; Impfstoffe aus inaktiviertem Virus sollten nur noch in speziellen Ausnahmesituationen (z. B. Impfung einer tragenden Hündin) zur Anwendung kommen (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017). Allein die AAHA empfiehlt, bei erhöhtem Infektionsrisiko für Hunde zwischen der 16. und 20. Lebenswoche noch eine zweite Impfung nach zwei bis vier Wochen durchzuführen (FORD et al., 2017). Für Tierheime wird angegeben, adulte Hunde mit unbekanntem Impfstatus zum Zeitpunkt der Aufnahme zu impfen und eine Wiederholungsimpfung zwei bis drei Wochen später anzuschließen (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017). Diese Wiederholungsimpfung sieht die Leitlinie der StIKo Vet jedoch nur bei Verwendung inaktivierter Vakzinen vor. Allerdings rät sie, analog zur Empfehlung für Welpen, unter bestimmten Voraussetzungen zur Gabe eines Immunserums zum Zeitpunkt der Aufnahme ins Tierheim (STIKO VET AM FLI, 2019).

Die Grundimmunisierung von Welpen wird nach Empfehlung aller Expertengruppen durch eine erste Auffrischungsimpfung komplettiert. Dabei ist der optimale Zeitpunkt je nach Leitlinie anders definiert. So empfehlen die AAHA und die StIKo Vet eine erste Auffrischungsimpfung ein Jahr nach der letzten Erstimpfung (FORD et al., 2017), also im Alter von 15 Monaten (STIKO VET AM FLI, 2019). Die WSAVA hingegen empfiehlt, die erste Auffrischungsimpfung bereits im Alter zwischen sechs und zwölf Monaten durchzuführen (DAY et al., 2016). Dadurch soll der Zeitraum reduziert werden, in dem ein Hund potentiell ungeschützt ist. Somit ist das Ziel der ersten Auffrischungsimpfung nicht als „Boosterung“ der Immunantwort zu verstehen, sondern sie dient vielmehr dem

Zweck, eine protektive Immunität bei denjenigen Hunden zu induzieren, die auf die Erstimpfung als Welpen aufgrund interferierender MDA nicht adäquat angesprochen haben (DAY et al., 2016; STIKO VET AM FLI, 2017a, 2018). Im Gegensatz zur StIKo Vet, die die erste Auffrischungsimpfung grundsätzlich für alle Hunde empfiehlt, erachten die AAHA und die WSAVA diese ausschließlich für die Grundimmunisierung von Welpen als notwendig (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2019).

Nach der Grundimmunisierung sollte eine Impfung gegen CPV nicht häufiger als alle drei Jahre wiederholt werden. Dieses Intervall ist jedoch explizit auf MLV bezogen und nicht auf Impfstoffe aus inaktiviertem Virus übertragbar (DAY et al., 2016). Alternativ können gemäß aller Expertengruppen Antikörpermessungen zur Entscheidung über die Notwendigkeit einer Wiederholungsimpfung für den individuellen Hund herangezogen werden. Dieser selektive Ansatz wird insbesondere bei Hunden mit unbekannter Impfhistorie, „überfälligen“ Impfungen (also längerer Abstand als drei Jahre), dokumentierten Impfnebenwirkungen oder Hunden unter immunsuppressiver Therapie empfohlen (FORD et al., 2017). Auch bei Welpen kann die Bestimmung von Antikörpern sinnvoll sein, um eine adäquate Immunantwort auf die Erstimpfung zu kontrollieren und so die Notwendigkeit zur Auffrischungsimpfung zu prüfen; dabei sollte die Testung frühestens vier Wochen nach der letzten Erstimpfung ab einem Alter von 20 Wochen erfolgen (DAY et al., 2016; STIKO VET AM FLI, 2017a). Darüber hinaus kann laut Empfehlung der StIKo Vet eine exakte Bestimmung des maternalen Titers um den Geburtstermin helfen, den geeignete Zeitpunkt zur Erstimmunisierung der Welpen abzuschätzen (STIKO VET AM FLI, 2017a).

Weiter empfehlen die AAHA und die WSAVA, MLV grundsätzlich nicht bei tragenden Hündinnen oder Welpen unter vier Wochen anzuwenden, da eine intrauterine oder perinatale Infektion mit CPV zu einer Myokarditis (HAYES et al., 1979; LENGHAUS et al., 1980; BASTIANELLO, 1981; PARRISH et al., 1982b; PARRISH, 2017) oder (in selteneren Fällen) zur Schädigung des zentralen Nervensystems, wie zu einer zerebellären Hypoplasie, führen kann (SCHATZBERG et al., 2003; ELIA et al., 2007). Für Hunde unter Glukokortikoidtherapie, insbesondere bei Langzeitanwendung, wird eine Wiederholungsimpfung zwei bis vier Wochen nach Therapieende empfohlen (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017). Die StIKo Vet dagegen empfiehlt, Impfungen

grundsätzlich erst nach dem Absetzen von Glukokortikoiden anzuwenden und bei akuter Infektionsgefahr auf eine passive Immunisierung zurückzugreifen. Bei einer Dauertherapie mit Glukokortikoiden können Impfstoffe aus inaktiviertem Virus mit anschließender Erfolgskontrolle mittels Antikörperbestimmung eingesetzt werden (STIKO VET AM FLI, 2017b). Hunde unter anderer immunsuppressiver oder zytotoxischer Therapie sollten nach Empfehlung der AAHA und der WSAVA generell nicht geimpft werden. Auch der Einsatz von Impfstoffen aus inaktiviertem Virus wird hier nicht empfohlen, da diese entweder nicht wirksam sind, oder aber eine potentiell zugrundeliegende immunmedierte Krankheit triggern können (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017). Dagegen rät die StIKo Vet unter Ciclosporintherapie lediglich dazu, neue Grundimmunisierungen zu vermeiden; Wiederholungsimpfungen von zuvor geimpften Hunden können planmäßig durchgeführt werden. Bei Hunden unter Chemotherapie sollten nach Empfehlung der StIKo Vet idealerweise Antikörper bestimmt werden und eine Impfung, falls notwendig, frühestens nach Ende des ersten Therapiezyklus und bei gutem Allgemeinzustand erfolgen. Da allerdings davon ausgegangen werden muss, dass die Schutzwirkung nach Impfung hier nicht mit der von gesunden Hunden zu vergleichen ist, sollten häufigere Wiederholungsimpfungen oder Antikörpermessungen in Betracht gezogen werden. Weiter empfiehlt die StIKo Vet, dass eine Grundimmunisierung bei geriatrischen Patienten grundsätzlich immer aus zwei Impfungen im Abstand von drei bis vier Wochen bestehen sollte, auch wenn MLV verwendet werden, da ältere Hunde möglicherweise nicht genügend auf erstmalig verabreichte Impfstoffe ansprechen. In Bezug auf Wiederholungsimpfungen von zuvor korrekt geimpften geriatrischen Hunden ergeben sich keine Abweichungen vom Drei-Jahres-Intervall (STIKO VET AM FLI, 2017b). Dagegen rät die WSAVA bei Hunden über zehn Jahren zu einer jährlichen Überprüfung des Immunstatus mittels Antikörpermessung (DAY et al., 2016).

### **2.3. Impfungsassoziierte Probleme**

Ein Impftermin sollte neben der Untersuchung auf Impffähigkeit stets die sorgfältige Aufklärung und Zustimmung des Hundebesitzers beinhalten (DODDS, 2001; FLEMMING, 2001; FLEMMING & SCOTT, 2004; PAUL et al., 2006; GREENE & LEVY, 2012; DAY et al., 2016; STIKO VET AM FLI, 2018). Wenngleich die Leitlinien zur Impfung gegen CPV fortlaufend ergänzt und

verbessert werden (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2019) und für moderne Impfstoffe hohe Sicherheitsstandards gelten (HUSTEAD, 2001; BUNDESMINISTERIUM DER JUSTIZ UND FÜR VERBRAUCHERSCHUTZ & BUNDESAMT FÜR JUSTIZ, 2006; WOOD & ADAMS, 2006; HELDENS et al., 2008; BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG LANDWIRTSCHAFT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2013), kann eine Impfung weder absoluten Schutz noch absolute Sicherheit für jeden einzelnen Hund bieten (FLEMMING, 2001; MEYER, 2001; SYKES, 2014a; ROTH, 2019).

Eine Vielzahl an Erkrankungen oder Problemen werden mit einer Impfung in Verbindung gebracht (MARTINOD, 1997; POVEY & CARMAN, 1997g; DODDS, 1999; ROTH, 1999; MEYER, 2001; DAY, 2006; DAY & SCHULTZ, 2014m). Sie stellen häufig eine komplexe Interaktion zwischen dem individuellen Hund, dem Impfstoff und weiteren Faktoren, einschließlich des anwendenden Tierarztes, dar (BROOKS, 1991). Daten über unerwünschte Wirkungen immunologischer Arzneimittel stammen zum einen aus klinischen Studien und Feldversuchen im Rahmen der Zulassung (DESMETTRE & MARTINOD, 1997e, 1997f, 1997g, 1997i, 1997h, 1997j; HUSTEAD, 2001), zum anderen aus der Marktüberwachung nach der Produkteinführung (MARTINOD, 1997; MEYER, 2001; WOOD & ADAMS, 2006). Erfahrungen zur Sicherheit von Impfstoffen vor der Markteinführung sind auf die Probandenzahl der Zulassungsstudien begrenzt; sie repräsentieren folglich die häufiger auftretenden (und zumeist milderer) unerwünschten Reaktionen (FINE, 1995). Die Post-Market-Surveillance, die prinzipiell dazu geeignet ist, die gesamte Bandbreite an unerwünschten Reaktionen zu erfassen, basiert bislang primär auf Spontanmeldungen bei der zuständigen Meldebehörde (WOOD & ADAMS, 2006) und obliegt der Verantwortung und Einschätzung des anwendenden Tierarztes (FORD, 2001a; DAY et al., 2016; TIZARD, 2018i). In Deutschland können unerwünschte Arzneimittelwirkungen beim PEI oder bei der Bundestierärztekammer sowie beim jeweiligen Zulassungsinhaber angezeigt werden (STIKO VET AM FLI, 2018). Informationen zu unerwünschten Arzneimittelwirkung auf Basis eines Spontanmeldesystems haben allerdings rein deskriptiven Charakter (CUßLER & SCHWEDINGER, 2012). Daher fordern Kritiker für die Post-Market-Surveillance Nachbesserungen im Sinne einer aktiven epidemiologischen Überwachung, um unerwünschte

Wirkungen veterinärmedizinischer Produkte adäquat zu erfassen, wissenschaftlich aufzubereiten und das Risiko zu quantifizieren (GASKELL et al., 2002; DAY, 2006; WOOD & ADAMS, 2006). Erschwerend kommt hinzu, dass es bislang keine verlässlichen Daten zur Zahl geimpfter Hunde gibt (TIZARD, 2018i). Somit sind Rückschlüsse auf die Inzidenz, also auf das Verhältnis zwischen den tatsächlich in der veterinärmedizinischen Praxis auftretenden unerwünschten Wirkungen und der Zahl durchgeführter Impfungen, aus den Pharmakovigilanzberichten derzeit nicht möglich (CUßLER & SCHWEDINGER, 2012).

Auf Grundlage der verfügbaren Daten, ist die Häufigkeit unerwünschter Wirkungen in Zusammenhang mit einer Impfung (vaccine-associated adverse events (VAAE)), häufig auch bezeichnet als vermutete unerwünschte Wirkungen (suspected adverse events (SAE)) oder vermutete unerwünschte Reaktionen (suspected adverse reactions (SAR)) bei Hunden insgesamt als sehr gering einzuschätzen (GASKELL et al., 2002; DAY, 2006, 2007b; DAY & SCHULTZ, 2014m; DAY et al., 2016). Eine epidemiologische Untersuchung zur Evidenz einer zeitlichen Assoziation zwischen Impfung und schlechtem Gesundheitszustand kam auf Basis von 4.040 ausgewerteter Fragebögen zufällig ausgewählter Hundebesitzer zu dem Ergebnis, dass eine kürzlich durchgeführte Impfung (im Abstand von < drei Monaten) das Erkrankungsrisiko von Hunden um nicht mehr als 0,5 % erhöhte, sondern vielmehr im Stande war, dieses um bis zu 5 % zu senken (EDWARDS et al., 2004).

Wenngleich eine Quantifizierung des Risikos schwierig ist, scheinen bei sehr jungen Tieren mehr Probleme mit der Impfstoffsicherheit aufzutreten als bei adulten Tieren (DAY, 2007b). Der Bericht des UK Veterinary Product Committee, das die Datenbank des Suspected Adverse Reaction Surveillance Scheme (SARSS), dem internationalen Vorreiter für Arzneimittelüberwachung in der Veterinärmedizin (DAY, 2007b), aus den Jahren 1985 bis 1999 ausgewertet hatte, zeigte, dass 47 % der insgesamt 1.133 VAAE bei Hunden im Alter bis zu sechs Monaten auftraten; im Vergleich zu 17 % von 1.468 nicht-Impfstoff-assoziiierter Meldungen (GASKELL et al., 2002). Dies könnte mit einer tatsächlich höheren Anfälligkeit oder aber mit einer höheren Zahl an Impfungen speziell in dieser Altersgruppe in Zusammenhang stehen (DAY, 2007b). Eine neuere Untersuchung wertete über einen Zeitraum von 4,5 Jahren alle bei der Canadian Food Inspection Agency eingegangenen Meldungen über unerwünschte Reaktionen in Zusammenhang mit der Impfung von Hunden aus (VALLI, 2015) (Tabelle 9).

**Tabelle 9: Anzahl an unerwünschten Reaktionen pro 10.000 verkaufter Hundeimpfdosen exklusive Tollwut, die zwischen 01.01.2010 und 30.06.2014 bei der Canadian Food Inspection Agency im Canadian Centre for Veterinary Biologics gemeldet wurden (in Anlehnung an VALLI, 2015)**

Reaktion pro 10.000 verkaufter Hundeimpfdosen	Bewertung	
	wahrscheinlich impfassoziert <sup>A/B/O</sup>	wahrscheinlich nicht impfassoziert <sup>N</sup>
Allergische Reaktionen (exklusive Anaphylaxie)	2,663	0,040
Anaphylaxie, zirkulatorischer Schock	0,332	0,010
Dyspnoe	0,155	0,017
Erbrechen	2,511	0,195
Durchfall	0,791	0,111
Bewusstseinsverlust, Kollaps	0,141	0,011
Schmerz	0,240	0,013
Lethargie	1,923	0,103
Fieber	0,132	0,025
Malaise	0,017	0,005
Vaskulitis	0,013	0,002
Husten	0,445	0,113
Erkrankungen der oberen Atemwege	0,346	0,070
Reaktionen an der Injektionsstelle (exklusive Sarkome)	1,144	0,130
Sarkome an der Injektionsstelle	0,002	0,001
Tod	0,104	0,073
Mutmaßliches Impfversagen	0,228	0,203
Neurologische Erkrankungen	0,459	0,081
Immunmedierte Erkrankungen	0,027	0,003
<b>Gesamt</b>	<b>11,673</b>	<b>1,206</b>

Kriterien zur Bewertung des Kausalzusammenhangs entsprechend dem internationalen ABON-System (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2013), welches von der Canadian Food Inspection Agency zur Beurteilung der gemeldeten vermuteten unerwünschten Reaktionen im Zusammenhang mit der Impfung angewendet wurden: A: wahrscheinlicher Kausalzusammenhang, B: möglicher Kausalzusammenhang, O: nicht klassifizierbar oder nicht eindeutig (Fälle, bei denen keine zuverlässigen Daten vorliegen oder die Informationen nicht ausreichen, um Schlussfolgerungen zu ziehen), N: unwahrscheinlicher Kausalzusammenhang. Die Inzidenzraten wurden auf Grundlage der mit A, B oder O codierten Fälle von Reaktionen bei Hunden berechnet.

Demnach treten dokumentierte VAAE insgesamt relativ selten auf (VALLI, 2015). MOORE et al., die retrospektiv Daten von 1.226.159 Hunden analysiert hatten, die an 360 Tierkliniken geimpft worden waren, fanden eine etwas höhere Inzidenz. Sie ermittelten insgesamt 4.678 Ereignisse bei 3.439.576 applizierten Impfdosen (= 13,6 VAAE pro 10.000 Impfdosen oder 38,2 VAAE pro 10.000 geimpfter Hunde). Zudem konnten sie mithilfe eines multivariaten logistischen Regressionsmodells zeigen, dass jungadulte kastrierte Hunde kleiner Rassen, die mehrere Impfantigene pro Besuch erhalten hatten, das größte Risiko aufwiesen, innerhalb von 72 Stunden nach Impfung eine unerwünschte Reaktion zu entwickeln; multivalente Impfstoffe hatten in dieser Studie keine höhere Reaktionsrate als monovalente Vakzinen (MOORE et al., 2005b). Beim japanischen Ministerium für Landwirtschaft, Forsten

und Fischerei gingen zwischen April 1994 und März 2000 insgesamt 284 Meldungen zu VAAE bei Hunden nach Anwendung verschiedener mono- oder polyvalenter Impfstoffe, exklusive Tollwut, ein (OHMORI et al., 2002). Eine aktuellere Studie, die zwischen April 2006 und Mai 2007 das Auftreten von VAAE mithilfe von Fragebögen bei 573 japanischen Tierkliniken abgefragt hatte, stellte eine sehr viel höhere Inzidenz fest als alle bisherigen Erhebungen. In die Analyse wurden insgesamt 57.300 Hunde einbezogen, die mit Kombinationsimpfstoffen, exklusive Tollwut, geimpft worden waren; insgesamt zeigten 359 Hunde VAAE (= 62,65 VAAE pro 10.000 geimpfter Hunde) (MIYAJI et al., 2012). Experten erklären dies durch eine Überrepräsentation von Miniaturrassen, die in Japan sehr beliebt und häufiger von VAAE betroffen sind (DAY et al., 2016). Die Tatsache, dass kleine Hunde zugleich die höchsten Antikörperspiegel auf die Impfung ausbilden (KENNEDY et al., 2007; TAGUCHI et al., 2012b; DAY & SCHULTZ, 2014m), legt die Forderung nahe, spezielle Formulierungen niedrig-dosierter Produkte für eine sichere und zugleich effektive Anwendung für Miniaturrassen zu entwickeln (DODDS, 2002; TAGUCHI et al., 2012b).

In den Pharmakovigilanzberichten des PEI werden VAAE nur dann erwähnt, wenn mindestens drei unabhängige Meldungen zu einer Substanzklasse vorliegen (CUBLER & SCHWEDINGER, 2012). Im Überwachungszeitraum 2015 war ein sprunghafter Anstieg, der beim PEI eingegangenen Meldungen über VAAE bei Hunden in Deutschland zu verzeichnen. Dies wird in Zusammenhang mit der Einführung neuer Impfstoffe gegen Leptospirose gesehen, die mehr als die früher üblichen zwei Serovare enthalten (HOFFMANN et al., 2016).

**Tabelle 10: Anzahl der beim PEI eingegangenen Meldungen über unerwünschte Reaktionen bei immunologischen Arzneimitteln für Hunde in den Jahren 1998 bis 2015 (Daten entnommen aus den Pharmakovigilanzberichten HOFFMANN et al., 2003; HOFFMANN et al., 2005a, 2005b, 2006, 2007, 2008; HOFFMANN et al., 2010; HOFFMANN et al., 2011; HOFFMANN et al., 2012; HOFFMANN et al., 2013, 2015, 2016)**

Jahr	2015	2014	2013	2012	2011	2010	2009	2008	2007
Anzahl der Meldungen	301	218	170	125	110	113	105	129	75

Jahr	2006	2005	2004	2003	2002	2001	2000	1999	1998
Anzahl der Meldungen	109	77	80	64	74	78	89	116	108



Die meisten beim PEI eingegangenen Meldungen betreffen Lebendimpfstoffe oder Kombinationsvakzinen mit viralen Antigenen (HOFFMANN et al., 2006). Auch in der Schweiz basieren die meisten der 70 Meldungen beim Hund, die für das Jahr 2018 im nationalen Vaccinovigilance-Meldesystem erfasst wurden, auf der Anwendung von Kombinationsimpfstoffen gegen Staupe, Hepatitis contagiosa canis (HCC), canine Parvovirose und Parainfluenza mit (34/70) und ohne Leptospirose (21/34). Dabei wurde bei insgesamt 30 % aller eingegangenen Fälle ein kausaler Zusammenhang mit der Impfung als wahrscheinlich befunden (ROGGER et al., 2019). Eine japanische Untersuchung, die insgesamt 85 Hunden mit allergischen Reaktionen innerhalb von 24 Stunden nach Impfung einschloss, konnte für 83 Hunde eine Verteilung hinsichtlich der zuvor eingesetzten Vakzinen ermitteln (OHMORI et al., 2005b) (Tabelle 11).

**Tabelle 11: Aufschlüsselung der allergischen Reaktionen nach der Impfung von Hunden in Japan entsprechend den eingesetzten Vakzinen exklusive Tollwut (Daten entnommen aus OHMORI et al., 2005b)**

	<b>Monovalente Vakzinen mit lebendem CPV</b>	<b>Monovalente Vakzinen mit inaktiviertem CPV <u>oder</u> Leptospiren-Vakzinen</b>	<b>Kombinations-Vakzinen mit lebendem CPV, CDV, CAV-2 und/oder CPiV-2</b>	<b>Kombinations-Vakzinen mit lebendem CPV, CDV, CAV-2, CPiV-2 und/oder CCoV <u>und</u> Vakzinen mit inaktiviertem CCoV und/oder Leptospiren-Vakzine</b>
Anzahl an Reaktionen (%)	2/83 (2,4 %)	0/83 (0,0 %)	28/83 (33,7 %)	53/83 (63,9 %)

%; Prozent, CAV-2: canines Adenovirus-2, CCoV: canines Coronavirus, CDV: canine distemper virus (canines Staupevirus), CPiV-2: canines Parainfluenzavirus-2, CPV: canines Parvovirus.

Aufgrund der insgesamt niedrigen Inzidenz dokumentierter unerwünschter Wirkungen und der Vielzahl möglicher Einflussfaktoren sind die genauen Ursachen von VAAE in vielen Fällen nur schwer zu ermitteln (MOORE & HOGENESCH, 2010). Um etwaige Probleme mit der Impfung angemessen an das Vigilanzsystem melden zu können, und so einen Beitrag zur Verbesserung der Sicherheit und Effektivität der Impfstoffe zu leisten, zählt neben der Einhaltung der Herstellerangaben zu einer „good vaccination practice“ ebenso die präzise Dokumentation einschließlich Chargennummer, Komponenten und Injektionsstelle (FORD, 2001a; DAY & SCHULTZ, 2014m; DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2018).

### 2.3.1. Unerwünschte Wirkungen

Eine unerwünschte Arzneimittelwirkung ist in Artikel 1 der Richtlinie 2001/82/EG definiert als „eine Reaktion, die schädlich und unbeabsichtigt ist und bei Dosierungen auftritt, wie sie normalerweise bei Tieren [...] für die Beeinflussung einer physiologischen Funktion verwendet werden“ (EUROPÄISCHES PARLAMENT UND RAT DER EUROPÄISCHEN UNION, 2001). Die Klassifikation einer unerwünschten Wirkung wird im Sinne der Kausalitätsbeurteilung nach dem ABON-System (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2013) v. a. über einen nachvollziehbaren zeitlichen Zusammenhang zwischen der Impfung und dem Eintreten sowie der Dauer der Reaktion begründet (FINE, 1995; DAY, 2006; MOORE & HOGENESCH, 2010). Weiter sollten die klinischen Symptome mit dem pharmako-toxikologischen Profil und/oder dem Allergiepotential des Produkts vereinbar oder zumindest plausibel sein (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2013). Allerdings können Impfstoffkomponenten über längere Zeit im Körper verbleiben, sodass Reaktionen auf Impfstoffe durchaus mit größerem zeitlichen Abstand auftreten können als dies z. B. bei der Anwendung von Medikamenten, die schneller ausgeschieden oder metabolisiert werden, der Fall ist (DUVAL & GIGER, 1996). Gerade bei chronischen systemischen Wirkungen sind vielfältige klinische Symptome möglich. In diesen Fällen fällt die Beweisführung für einen kausalen Zusammenhang mit der Impfung oft schwer. Im umgekehrten Fall muss ein enger zeitlicher Zusammenhang nicht per se einen kausalen Zusammenhang bedeuten. So gaben MOORE und HOGENESCH zu bedenken, dass v. a. bei Jungtieren, Erkrankungen oder gesundheitliche Beeinträchtigungen akzidentiell in einem zeitlichen Zusammenhang mit einer Impfung registriert werden (MOORE & HOGENESCH, 2010). Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass im Rahmen der Grundimmunisierung häufig geimpft wird und viele Erkrankungen im Welpenalter gehäuft auftreten. Ein derartiges Phänomen ist auch in der Humanmedizin bekannt (ROBERT-KOCH-INSTITUT, 2016).

Ebenso schwierig ist die Frage zu beantworten, ob bestimmte Hunderassen für eine unerwünschte Reaktion in Zusammenhang mit einer Impfung prädisponiert sind. Eine große retrospektive Studie an über 1,2 Millionen Hunde ergab, dass, bei einer Gesamtreaktionsrate von 38,2 VAAE pro 10.000 geimpfter Hunde, Tiere kleinerer Rassen überrepräsentiert waren. Als die fünf häufigsten betroffenen Rassen wurden

Dachshunde, Möpse, Boston Terrier, Zwergpinscher und Chihuahuas genannt; Deutsche Boxer wurden als einzige große Hunderasse identifiziert, die mehr VAAE zeigten als der Durchschnitt (MOORE et al., 2005a). MIYAJI et al. konnten den Eindruck bestätigen, dass Minitaturrassen häufig von VAAE, allen voran allergischen Reaktionen vom Soforttyp, betroffen sind (MIYAJI et al., 2012). Da Impfstoffe außer dem Impfantigen viele weitere Komponenten enthalten, die eine Immunantwort potenzieren können, gilt es als wenig überraschend, dass eine höhere Exposition, also ein größeres Volumen pro kg KGW, auch das Risiko für lokale und systemische Reaktionen erhöhen kann (MOORE & HOGENESCH, 2010). Zusammen mit den Erkenntnissen von KENNEDY et al., die signifikante Rasseunterschiede in der humoralen Immunantwort auf die Tollwutimpfung nachgewiesen hatten und ursächlich v. a. Unterschiede in der Genetik erörterten (KENNEDY et al., 2005; KENNEDY et al., 2007), kann neben einem ungünstigeren „vaccine dose effect“ für Hunde kleinerer Rassen auch eine genetische Komponente in Bezug auf das Risiko für VAAE vermutet werden (siehe auch 2.3., 2.3.2.1.2. und 2.3.2.1.11.). Der Nachweis genetischer Zusammenhänge ist jedoch komplex; multiple Gene oder genetische Regionen könnten mit der Manifestation einer speziellen unerwünschten Wirkung auf eine Impfung assoziiert sein. Daher hat die Identifikation spezifischer genetischer Komponenten eine untergeordnete praktische Relevanz. Als wichtigste Maßnahme wird empfohlen, bei „Hochrisikopatienten“ die Anzahl von Impfantigenen pro Besuch zu minimieren und die Impfung zeitlich zu splitten (MOORE & HOGENESCH, 2010). Es wurde nachgewiesen, dass die Inzidenz für eine VAAE innerhalb von 72 Stunden nach Impfung mit der Anzahl simultan verabreichter Antigene assoziiert ist (MOORE et al., 2005b); ob weniger Impfantigene pro Besuch jedoch auch das kumulative (lebenslange) Risiko reduzieren, eine VAAE zu entwickeln, ist unklar (MOORE & HOGENESCH, 2010).

Immunologische Komplikationen auf eine Impfung im Sinne von Hypersensitivitätsreaktionen können grundsätzlich den Typen I bis IV zugeordnet werden; diese Reaktionen können auch in Kombination auftreten (GREENE & LEVY, 2012). Allerdings ist bei vielen unerwünschten Erscheinungen ein Kausalzusammenhang mit Impfungen nicht bewiesen und zugrundeliegende Pathomechanismen noch weitgehend unverstanden, sodass eine Zuordnung mitunter schwerfällt (INSTITUTE OF MEDICINE, 2012).

### 2.3.1.1. Typ-I-Hypersensitivitätsreaktionen

Allergische Reaktionen im Sinne einer Typ-1-Hypersensitivität stellen den mit Abstand häufigsten Typ dokumentierter Beanstandungen nach einer Impfung von Hunden dar. Diese Hypersensitivitätsreaktionen vom Soforttyp können mit unterschiedlichen klinischen Manifestationen, wie Angioödem (häufig fazial oder periorbital als sogenannter „big head“), Pruritus, Quaddelbildung, Hypotension und Kollaps, einhergehen (GRAY et al., 1990; MADDISON, 1994; TJÄLVE, 1997; DODDS, 2001; MEYER, 2001; OHMORI et al., 2002; MOORE et al., 2005b; OHMORI et al., 2005b; DAY, 2006, 2007b; MOORE & HOGENESCH, 2010; GREENE & LEVY, 2012; MIYAJI et al., 2012; VALLI, 2015; HOFFMANN et al., 2016; ROGGER et al., 2019). Während bei Katzen meist Respirations- und Gastrointestinaltrakt betroffen sind, kommt es bei Hunden v. a. zu massiven Blutansammlungen in der Leber und in der Folge zu einem reduzierten venösen Rückfluss zum Herzen, einer reduzierten Herzauswurfleistung und einem Blutdruckabfall (DAY & SCHULTZ, 2014f). Erbrechen, Durchfall (wässrig oder auch hämorrhagisch) und Atemnot sind bei Hunden nach Impfung sehr viel seltener zu beobachten als bei Katzen (MOORE & HOGENESCH, 2010).

Allergische Reaktionen vom Soforttyp treten typischerweise innerhalb der ersten ein bis zwei Stunden, meist sogar innerhalb von 15 bis 20 Minuten, nach einer Impfung auf (BROOKS, 1991; DAY & SCHULTZ, 2014f); durch Einwanderung eosinophiler Granulozyten und Makrophagen kann aber auch ein zweites Stadium, die sogenannte „late-phase-response“ nach vier bis 24 Stunden auftreten (GREENE & LEVY, 2012; DAY & SCHULTZ, 2014f). Der immunologische Mechanismus dieser hauptsächlich IgE-vermittelten Reaktionen, die zu einer  $Fc\epsilon$ -Rezeptor-vermittelten Degranulation sensibilisierter basophiler Granulozyten und Mastzellen mit Freisetzung großer Mengen biologisch aktiver Mediatoren (z. B. Heparin, Histamin, Serotonin, Kininogenase, Tryptase, Chymase, Exoglykosidasen) und nachfolgender Produktion von Entzündungsmediatoren (z. B. Plättchen-aktivierender Faktor, Thromboxane, Prostaglandine, Leukotriene) und Zytokinen (z. B. Interleukin-4, -5, -6, -13 oder Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )) führen (BROOKS, 1991; MOORE & HOGENESCH, 2010; GREENE & LEVY, 2012; DAY & SCHULTZ, 2014f), ist noch nicht genau geklärt (OHMORI et al., 2005a; OHMORI et al., 2005b). Auch eine spezielle Subklasse von IgG-Antikörpern, sogenannte homozytotrophe IgG, sind in der Lage, über den  $Fc\gamma$ -Rezeptor an

basophile Granulozyten und Gewebe-Mastzellen zu binden und deren Degranulation auszulösen (BROOKS, 1991; DAY & SCHULTZ, 2014f). Direkte Folgen der Mastzelldegranulation sind (1) Vasodilatation mit Ödembildung und Extravasation von Entzündungszellen, (2) Kontraktion der glatten Muskulatur (mit größter Relevanz für die Atemwege im Sinne einer Bronchokonstriktion) und (3) Interaktionen mit lokalen Nervenendigungen („pruiceptors“) (MOORE & HOGENESCH, 2010; DAY & SCHULTZ, 2014f). Auch vasovagale Reaktionen, mit und ohne Hyperventilation, sind bei Impfungen nicht ungewöhnlich. Sie werden v. a. beim Menschen beschrieben. Obwohl auch diese Reaktionen durchaus dramatisch sein können, dürfen sie nicht mit einer akuten allergischen Reaktion verwechselt werden (NOKLEBY, 2006).

Neben aktiven Inhaltsstoffen in Form von spezifischen Antigenen enthalten Impfstoffe verschiedene weitere potentielle Allergene, z. B. Reste von Kulturmedien, Adjuvantien, Stabilisatoren, Antibiotika, Farbstoffe und andere Additive (LIESE & REINHARDT, 2005; MOORE & HOGENESCH, 2010). Ausgewählten Impfstoffen ist z. B. Neomycin, Polymyxin B, Amphotericin B oder Penicillin zugesetzt, das bei individueller Unverträglichkeit Typ-I-Reaktionen verursachen kann; ebenso stellt Latex vom Gummistopfen der Durchstechampulle ein bekanntes Allergen dar (MOORE & HOGENESCH, 2010). Dagegen könnte der Zusatz bestimmter Adjuvantien allergischen Reaktionen sogar entgegenwirken. So konnte experimentell gezeigt werden, dass z. B. lebendes Bacillus-Calmette-Guérin (BCG) in der Lage ist, die Antwort von Typ-2-T-Helferzellen auf ein primäres Allergen (z. B. Ovalbumin) zu supprimieren; diese Adjuvantien könnten eine Option für ein neues Impfstoffdesign sein, um die Häufigkeit allergischer Reaktionen zu reduzieren (TRUJILLO-VARGAS et al., 2005). Zumeist ist nicht klar, welche Komponente tatsächlicher Auslöser einer allergischen Reaktion ist (BROOKS, 1991). Obwohl Typ-I-Hypersensitivitätsreaktionen prinzipiell auf jedes Produkt möglich sind, wurden sie häufig in Zusammenhang mit adjuvanten oder multivalenten Vakzinen beschrieben, die große Mengen an Fremdprotein enthielten; neben inaktivierten Impfstoffen gegen Tollwutvirus, canines Coronavirus (CCoV) und Leptospiren sowie parenteralen Lebendimpfstoffen gegen Bordetellen wurden in diesem Zusammenhang beim Hund auch „potenzierte“ hochtitrige CPV- und CDV-Impfstoffe genannt (GREENE & LEVY, 2012) (siehe auch 2.3.). Experimentelle und klinische Studien konnten nachweisen,

dass Hunde IgE-Antikörper auf verschiedene Fremdproteine ausbilden, die als Reste des beim Herstellungsprozess in Zellkulturen eingesetzten fetalen Kälberserums (wie bovines Albumin oder Fibronektin) oder als Stabilisatorproteine (wie Gelatine, Kaseine oder Peptone) im Impfstoff enthalten sind (HOGENESCH et al., 2002; OHMORI et al., 2005a; OHMORI et al., 2007). OHMORI et al. fanden bei sieben von zehn Hunden mit einer dokumentierten allergischen Reaktion auf eine Impfung eine signifikant erhöhte IgE-Reaktivität gegen fetales Kälberserum (OHMORI et al., 2005a). Daher fordern manche Autoren, den Einsatz solcher sensibilisierender Substanzen bei der Impfstoffherstellung auf ein Minimum zu reduzieren und die Produkte entsprechend aufzureinigen (MARTINOD, 1997; DAY, 2007b). In der Humanmedizin treten akute allergische Reaktionen auf Zusatzinhaltsstoffe mit einer geschätzten Häufigkeit von 1 : 450.000 bis 1 : mehrere Millionen Impfungen extrem selten auf, und die Impfstoffentwicklung zielt darauf ab, die auslösenden Substanzen weiter zu verringern (LIESE & REINHARDT, 2005). Nach aktueller Datenlage sind bei Hunden v. a. bovine Proteine als Allergene in Zusammenhang mit Impfstoffen von Bedeutung (MOORE & HOGENESCH, 2010). Dabei enthalten Hundeimpfstoffe sehr viel mehr bovines Serumalbumin (BSA) und bovines IgG als die von der Weltgesundheitsorganisation für humane Impfstoffe empfohlenen 50 Nanogramm (ng) pro Impfdosis (OHMORI et al., 2005a). Da allergische Reaktionen auch schon bei Erstimpfung möglich sind (OHMORI et al., 2005b; DAY, 2006), wird auch eine Sensibilisierung der Mastzellen durch Exposition zu Kuhmilch (BROOKS, 1991) oder maternalen Transfer von antigenspezifischem IgE in utero oder während des Säugens (DAY, 2006, 2007b; MOORE & HOGENESCH, 2010) als Auslöser diskutiert.

Hunde mit einer dokumentierten allergischen Reaktion nach einer Impfung müssen nicht zwangsläufig eine erneute akute Hypersensitivitätsreaktion auf nachfolgende Impfungen entwickeln (MOORE & HOGENESCH, 2010). Dennoch wird bei diesen Patienten zu einer besonderen Vorgehensweise geraten, um das Risiko für eine weitere allergische Reaktion zu reduzieren. Dazu zählt (1) die Anzahl der Impfantigene pro Applikation zu reduzieren, (2) nach Möglichkeit eine nicht-adjuvante MLV zu verwenden, (3) ein Produkt eines anderen Herstellers zu wählen und (4) bevorzugt Impfstoffe zur subkutanen oder mukosalen Applikation anstelle von Impfstoffen zur intramuskulären Injektion einzusetzen (GREENE & LEVY, 2012). Wenngleich alle derzeit in Deutschland zugelassenen CPV-Impfstoffe

ausschließlich zur subkutanen Injektion vorgesehen sind (siehe auch Tabelle 6), bei denen ein geringeres Risiko einer Aufnahme von Impfstoffkomponenten in den Blutkreislauf besteht als bei intramuskulären Vakzinen, ist eine versehentliche Punktion eines Blutgefäßes auch hier vor jeder Injektion über eine Aspiration auszuschließen. Risikopatienten, die bereits auf eine vorangegangene Impfung allergisch reagiert haben, sollten nach der Impfung ein bis zwei Stunden stationär überwacht werden; weitere Impfungen sollten frühestens wieder nach zwei Wochen durchgeführt werden (GREENE & LEVY, 2012). Ergänzend wird von manchen Autoren dazu geraten, bei Hunden mit einer vorberichtlichen allergischen Impfreaktion eine Prämedikation mit Antihistaminika (z. B. Diphenhydramin, 1 mg/kg KGW subkutan oder intramuskulär mindestens 15 Minuten vor der Impfung) vorzunehmen oder das Medikament neben dem Patienten bereitzuhalten, um es im Bedarfsfall schnell einsetzen zu können. Mitunter wird auch die Anwendung von Glukokortikoiden empfohlen (GREENE & LEVY, 2012); da diese allerdings einen Impferfolg potentiell reduzieren können (siehe auch 2.3.2.1.13.), gilt dieser Ansatz als umstritten. Weiter wird eine intradermale Hauttestung mit einer kleinen Menge der allergieverdächtigen Vakzine (typischerweise 0,1 ml im direkten Vergleich zu einer Negativkontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung und einer Positivkontrolle mit Histamin) manchmal als hilfreich erachtet (MOORE & HOGENESCH, 2010; GREENE & LEVY, 2012).

In der Humanmedizin wird grundsätzlich dazu geraten, Patienten mit allergischer Reaktion auf eine Impfung einem Allergologen oder Immunologen vorzustellen, um das verdächtige Allergen zu identifizieren (MOORE & HOGENESCH, 2010). Da Impfantigene teilweise in Hühnerzellkulturen oder -embryonen vermehrt werden und Rückstände im Produkt enthalten sein können, wird speziell die Relevanz einer bekannten Hühnereiweißallergie immer wieder in Zusammenhang mit Impfungen diskutiert. Je nach Ausprägung der Allergie kann bei bestimmten Impfungen eine besondere Vorgehensweise indiziert sein (LIESE & REINHARDT, 2005). Vakzinen, die in Hühner-Fibroblastenzellkulturen produziert werden, z. B. Masern-Mumps-Röteln- (MMR), Frühsommer-Meningoenzephalitis- (FSME) oder Tollwutimpfstoffe, enthalten kaum nachweisbare Rückstände von Ovalbumin, sodass bei diesen Impfungen von keiner allergisierenden Potenz ausgegangen wird (DITTMANN, 2002; ROBERT-KOCH-INSTITUT, 2019a). Typ-I-Hypersensitivitätsreaktionen auf MMR-Vakzinen sind ausgesprochen selten; wenn

sie auftreten, stehen sie verschiedentlich mit anderen Impfstoffkomponenten, z. B. Gelatine oder Neomycin, in Zusammenhang (GEORGITIS & FASANO, 2001; NOKLEBY, 2006); hierüber konnte der Nachweis spezifischer IgE-Antikörper Aufschluss geben (NAKAYAMA et al., 1999; PATJA et al., 2001; POOL et al., 2002; NAKAYAMA & KUMAGAI, 2004). Auf Grundlage internationaler Studien wird die Hühnereiweißallergie in Impfleitlinien nicht mehr als Kontraindikation für eine MMR-Impfung genannt (FREIGANG et al., 1994; KHAKOO & LACK, 2000). Auch Kinder mit bekannter Allergie können problem- und gefahrlos gegen MMR geimpft werden (ROBERT-KOCH-INSTITUT, 2019a). Patienten mit einer vorberichtlichen schweren kardiorespiratorischen Reaktion oder mit therapiepflichtigem chronischen Asthma bronchiale in Verbindung mit vorberichtlichen leichteren klinischen Reaktionen auf eine Impfung (z. B. Urtikaria, Ödeme, orale und gastrointestinale Symptome) sollten allerdings unter stationärer Überwachung geimpft werden (KHAKOO & LACK, 2000; ROBERT-KOCH-INSTITUT, 2019a). Von einer fraktionierten Impfstoffgabe und Hauttestung vor der Impfung wird von manchen Autoren aufgrund einer potentiellen Sensibilisierung abgeraten (LIESE & REINHARDT, 2005). Impfungen gegen Tollwut und FSME können, falls indiziert, analog zur MMR-Impfung durchgeführt werden (LIESE & REINHARDT, 2005). Impfstoffe gegen Influenza und Gelbfieber werden dagegen in Hühnerembryonen hergestellt und können, selbst nach Aufreinigung, größere Mengen Ovalbumin enthalten. In Zellkulturen produzierte Influenzaimpfstoffe sind seit der Saison 2016/17 in Deutschland nicht mehr erhältlich (ROBERT-KOCH-INSTITUT, 2019b). Obwohl klinische Studien zeigten, dass selbst bei Menschen mit bekannter Hühnereiweißallergie schwerwiegende allergische Reaktionen auf eine Influenzaimpfung ebenso selten auftreten wie bei Menschen ohne derartige Allergie (KELSO, 2014; TURNER et al., 2015), empfiehlt die Ständige Impfkommision am Robert-Koch-Institut (STIKO) bei schwerer Hühnereiweißallergie, eine Impfung nur nach strenger Indikationsstellung und unter entsprechendem klinischem Setting vorzunehmen (ROBERT-KOCH-INSTITUT, 2019b). Bei leichter Allergie können alle zugelassenen Influenza-Vakzinen verwendet werden, ohne dass spezielle Überwachungsmaßnahmen erforderlich sind (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2017).

Eine Allergie im weiteren Sinn (z. B. Patienten mit Erkrankungen aus dem



atopischen Formenkreis oder Säuglinge/Kleinkinder mit einer familiären allergischen Vorbelastung) wird, trotz einer eventuell stärkeren Lokalreaktion, nicht als Grund angesehen, die empfohlenen Routineimpfungen nicht durchzuführen oder zu verschieben. Nach aktueller Studienlage gibt es keine Belege, dass Impfungen das Allergierisiko erhöhen (KOPPEN et al., 2004). So wird von der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie geraten, auch Risikokinder mit erhöhtem Allergiepotential nach den Empfehlungen der STIKO zu impfen (SCHÄFER et al., 2014). Bei Hunden mit atopischer Dermatitis gibt es allerdings Hinweise auf eine Potenzierung der allergischen Immunreaktion durch Impfungen, weshalb empfohlen wird, diese, falls möglich, außerhalb der Allergiesaison oder in den symptomfreien Intervallen zu impfen (GREENE & LEVY, 2012). Welpen einer „atopischen Kolonie“, deren Eltern wegen einer ausgeprägten Hautreaktion auf Gräserpollen ausgewählt worden waren, zeigten in Abhängigkeit zum Zeitpunkt der Impfung unterschiedlich starke anti-Pollen-IgE-Antworten; wurden Welpen vor der Injektion von Pollenextrakt gegen CDV, canines Adenovirus-1 (CAV-1) und Leptospiren geimpft, bildeten sie signifikant höhere IgE-Antikörper als ihre Wurfgeschwister, die erst nach der Pollenexposition geimpft wurden (FRICK & BROOKS, 1983). Eine neuere Studie ermittelte bei Hunden mit Getreideallergie vor und zu verschiedenen Zeitpunkten nach einer Routineimpfung die Konzentration spezifischer IgE- und IgG-Antikörper. Allergische Hunde hatten signifikant höhere IgE- und IgG-Konzentrationen ein und drei Wochen nach der Impfung (jedoch ohne klinische Symptome zu zeigen), wohingegen gesunde Kontrolltiere keinerlei Veränderungen der Immunglobulinkonzentrationen zeigten. Wurde allergischen Hunden dagegen ausschließlich aluminiumhaltiges Adjuvans injiziert, zeigten auch diese Hunde keinen Anstieg der Immunglobuline (TATER et al., 2005).

#### **2.3.1.2. Typ-II-Hypersensitivitätsreaktionen**

Im Vergleich zu Hypersensitivitätsreaktionen vom Soforttyp sind zytotoxische Typ-II-immunmedierte Erkrankungen, z. B. immunmedierte hämolytische Anämie (IMHA), immunmedierte Thrombozytopenie (ITP), Polyneuritis/Polyradikuloneuritis und Thyreoiditis, als unerwünschte Wirkungen in Zusammenhang mit Impfungen sehr viel seltener beschrieben (VALLI, 2015). Bei dieser Art der Hypersensitivität kommt es über eine Sensibilisierung und nachfolgende Produktion von IgG- und (zu einem kleineren Teil) IgM-Antikörpern,

die gegen Oberflächenantigene der jeweiligen Zielzellen gerichtet sind, zu einer direkten Zelledestruktion. Dementsprechend wird die Typ-II-Hypersensitivität auch als antikörpervermittelte Zytotoxizität bezeichnet. Sie kann sich auch gegen körpereigene Zellen, beim Hund typischerweise Erythrozyten (IMHA) oder Thrombozyten (ITP) (MOORE & HOGENESCH, 2010), richten. Dabei kann die Zerstörung über klassische Zytolyse über das Komplementsystem, Phagozytose über Makrophagen oder auch Fc-Rezeptor-vermittelt über natürliche Killerzellen via eine antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC)) erfolgen. Dies erklärt, warum klinische Folgen bei Typ-II-Reaktionen unterschiedlich schnell auftreten können; eine Destruktion über Makrophagen oder natürliche Killerzellen kann Tage bis Wochen dauern, wohingegen eine Lyse über den terminalen Komplementweg sehr viel schneller erfolgt (DAY & SCHULTZ, 2014f).

Es wird diskutiert, dass Impfstoffkomponenten sowohl die Produktion von Autoantikörpern induzieren, als auch das Immunsystem zur Zerstörung von Zellen mit vorbestehenden Oberflächen-Autoantikörpern aktivieren könnten (GREENE & LEVY, 2012). Bereits vor 20 Jahren beschrieben HOGENESCH et al. in einer experimentellen Studie nach einer Erstimpfung immunologisch naiver Beaglewelpen die Induktion verschiedener Autoantikörper, z. B. gegen Myoglobin, Myosin, Fibronectin und Laminin. Dabei wurde eine Grundimmunisierung mit mehrmaliger Applikation eines kommerziellen MLV-Kombinationsimpfstoffs in der achten, zehnten, zwölften, 16. und 20. Lebenswoche vorgenommen, ergänzt durch eine einmalige Injektion eines inaktivierten Tollwutimpfstoffs in der 16. Lebenswoche. Bis zum Studienende in der 22. Lebenswoche waren die Autoantikörper jedoch ohne klinische Signifikanz. Die Autoren folgern, dass weitere Faktoren in der Genetik oder Umwelt nötig seien, um eine klinische Manifestation einer immunmedierten Erkrankung bei einem kleinen Teil von Hunden mit Autoantikörpern auszulösen (HOGENESCH et al., 1999). Dabei ist die Bedeutung von impfinduzierten Autoantikörpern bei der Entstehung von immunmedierten Erkrankungen noch immer nicht geklärt; es wird diskutiert, dass diese auch lediglich eine „adjuvante“ Reaktion in Form einer polyklonalen Aktivierung darstellen könnten (SHOENFELD & ARON-MAOR, 2000).

Immunmedierte Erkrankungen können in Folge einer normalen Immunreaktion auf ein ungewöhnliches Antigen (z. B. durch Freilegung normalerweise verdeckter

Autoantigene, sogenannter „Kryptantigene“) oder, weitaus häufiger, aus einer überschießenden Immunreaktion auf ein normales Antigen entstehen. Obwohl diese Erkrankungen häufig den Anschein erwecken, „spontan“ aufzutreten, ist bei der Entstehung von einer gewissen Prädisposition auszugehen (TIZARD, 2018o). Je nachdem, ob zusätzliche Triggerfaktoren identifiziert werden können, sind primär immunmedierte Erkrankungen (nomenklatorisch äquivalent zu primären idiopathischen Autoimmunerkrankungen) von sekundär immunmedierten Erkrankungen (nomenklatorisch äquivalent zu sekundären Autoimmunerkrankungen) abzugrenzen (DAY & SCHULTZ, 2014j). Eine Reihe genetischer, hormoneller und Einflussfaktoren aus der Umwelt (z. B. Infektionen, Stress, ultraviolettes Licht) können zur Entwicklung immunmediierter Erkrankungen beitragen (DODDS, 2002; WRAITH et al., 2003; DAY & SCHULTZ, 2014j; TIZARD, 2018o). So wurde beispielsweise bei kastrierten Hunden eine höhere Inzidenz für verschiedene immunmedierte Erkrankungen, wie IMHA, ITP oder lymphozytäre Thyreoiditis, beschrieben, welche über den Einfluss der Sexualhormone auf das Immunsystem zu erklären ist (SUNDBURG et al., 2016) (siehe auch 2.3.2.1.3.). Allerdings fehlt bei Hunden die eindeutige Prädisposition des weiblichen Geschlechts für immunmedierte Erkrankungen, wie sie bei Menschen oder auch in Laborexperimenten bei Ratten zu beobachten ist. Dies könnte mitunter daran liegen, dass viele Hunde kastriert sind. Auch altersabhängigen Veränderungen der Immunfunktion (siehe auch 2.3.2.1.1.) wird bei der Entwicklung immunmedierter Erkrankungen eine Bedeutung beigemessen (DAY & SCHULTZ, 2014j). Weiterhin ist bei einigen Rassen, z. B. Akita, Altenglischer Schäferhund, Amerikanischer Cockerspaniel, Dachshund, Deutsche Dogge, Deutscher Schäferhund, Golden Retriever, Irisch Setter, Kerry Blue Terrier, Pudel, Vizsla oder Weimaraner, ein erhöhtes Risiko für bestimmte immunmedierte Erkrankungen bekannt (DODDS, 1999, 2001). Dies kann z. T. auf eine geringere genetische Diversität durch eine zahlenmäßig kleine Ausgangspopulation und einen zusätzlichen züchterischen „Flaschenhalseffekt“ zurückgeführt werden (PEDERSEN et al., 2015a; PEDERSEN et al., 2015b). Das aktuelle Konsensusstatement des American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) zur IMHA-Diagnose bei Hund und Katze konstatiert bei der Kausalitätsbeurteilung von Komorbiditäten und vermeintlichen Triggerfaktoren (bei denen neben infektiösen, entzündlichen und tumorösen Erkrankungen auch namentlich Medikamente, Toxine und Impfungen diskutiert werden): „[...]

*environmental, genetic, and epigenetic factors play a role in whether immune-mediated disease occurs in an individual patient*“ (GARDEN et al., 2019). Die zugrundeliegenden Mechanismen für die Assoziation von immunmedierten Erkrankungen und Impfungen sind jedoch bis dato nicht klar belegt (DAY, 2006). In Anlehnung an die Humanmedizin werden verschiedene Möglichkeiten, wie eine gestörte Herabregulation der immunologischen Selbsttoleranz, eine unspezifische Aktivierung des Immunsystems („bystander cell activation“) etwa über Adjuvantien oder mikrobielle „Superantigene“, eine Exposition zu im Impfstoff enthaltenen kreuzreaktiven Gewebeproteinen oder auch ein molekulares Mimikry zwischen Autoantigenen und Pathogenen im Impfstoff, diskutiert (HOGENESCH et al., 1999; SHOENFELD & ARON-MAOR, 2000; SCHATTNER, 2005; SIEGRIST, 2007b; GREENE & LEVY, 2012; INSTITUTE OF MEDICINE, 2012; TOUSSIROT & BERAU, 2015; SEGAL & SHOENFELD, 2018; TIZARD, 2018o; GARDEN et al., 2019).

Auch bei Hund und Katze wird postuliert, dass eine „Überimpfung“ von Individuen mit genetischer Prädisposition die Wahrscheinlichkeit, eine Autoimmunantwort mit einer nachfolgenden klinischen Erkrankung zu entwickeln, erhöhen kann (GERSHWIN, 2018). Allerdings konnte in verschiedenen Fall-Kontrollstudien bisher keine klare kausale Verbindung zwischen Impfungen und immunmedierten Erkrankungen nachgewiesen werden (CARR et al., 2002; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2002; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2006; MOORE & HOGENESCH, 2010; HUANG et al., 2012). Dennoch gibt es in der Literatur immer wieder Fallberichte über Hunde mit verschiedenen immunmedierten Erkrankungen in zeitlichem Zusammenhang mit der Verabreichung von Impfungen (JONES, 1984; MCANULTY & RUDD, 1985; DODDS, 1995; KOHN et al., 2003). Insbesondere ist eine Triggerung bestehender und unter Therapie kontrollierter immunmedierter Erkrankungen durch Impfungen nicht auszuschließen (DODDS, 1983; TIZARD, 1990; DODDS, 1993; SMITH, 1995; DODDS, 1997, 1999; HOGENESCH et al., 1999; ROTH, 1999; DODDS, 2001, 2002; DAY, 2006; DAY & SCHULTZ, 2014m; DAY et al., 2016; TIZARD, 2018i; ROTH, 2019). Ähnliches gilt für die Humanmedizin. Hier regte besonders die Assoziation zwischen immunmedierten Erkrankungen und bestimmten Infektionen die Debatte an, ob auch Impfungen über eben diese Mechanismen einen Triggerfaktor darstellen könnten (WRAITH et al., 2003; ORBACH et al., 2010). Aber auch beim Menschen sind Daten über einen

ursächlichen Zusammenhang zwischen Impfungen und immunmedierten Erkrankungen mitunter widersprüchlich oder anekdotisch und erlauben oft keine klaren Rückschlüsse. Für bestimmte Impfstämme sind in der Humanmedizin allerdings spezifische immunmedierte Komplikationen bekannt (COHEN & SHOENFELD, 1996; SHOENFELD & ARON-MAOR, 2000; SIEGRIST, 2007b; SALEMI & D'AMELIO, 2010), bei denen ein Kausalzusammenhang mit der Impfung „evident oder überwiegend wahrscheinlich“ ist (DITTMANN, 2002), so z. B. das Auftreten von ITP nach MMR-Impfung oder das Guillain-Barré-Syndrom (GBS) nach Impfung mit bestimmten Influenzavakzinen (SCHATTNER, 2005; HABER et al., 2009; TOUSSIROT & BEREAU, 2015) (siehe auch 2.3.1.2.2. und 2.3.1.2.5.).

#### **2.3.1.2.1. Immunmedierte hämolytische Anämie**

Impfungen, insbesondere CPV-MLV (GREENE & LEVY, 2012), stehen im Verdacht, ein Trigger für die Entwicklung klinisch manifester immunmedierter hämolytischer oder aplastischer Anämien (durch Zerstörung von Erythrozytenvorläuferzellen) bei Hunden zu sein. Dies wird, in Anlehnung an immunmedierte hämolytische Erkrankungen und erythroide Dysplasien bei Menschen mit Parvovirus-B19-Infektionen (BÖNSCH et al., 2008; ROGO et al., 2014), u. a. auf eine Affinität des Parvoviruskapsids zur Bindung an Erythrozyten-Rezeptoren zurückgeführt (GREENE & LEVY, 2012). Aber auch unabhängig von einer speziellen Impfstoffkomponente wird eine Impfung bei adulten Hunden als Komorbiditätsfaktor einer IMHA diskutiert (GARDEN et al., 2019). Beim Menschen wird ein derartiger Zusammenhang nur selten beobachtet (SCHATTNER, 2005). Einzelne Fälle von IMHA nach Impfung sind aber auch in der Humanmedizin dokumentiert (SELTSAM et al., 2000; DIAS & GOPAL, 2009).

Laut dem aktuellen ACVIM-Konsensusstatement zur IMHA-Diagnose bei Hunden und Katzen erwähnen 32 Veröffentlichungen eine Impfung als möglichen Trigger in Zusammenhang mit IMHA bei Hunden. Bei der Katze gibt es keine Publikationen, die eine Assoziation zwischen Impfung und IMHA beschreiben (GARDEN et al., 2019). Allerdings wurden auch beim Hund von den ACVIM-Experten tatsächlich nur 79 Fälle mit einem dokumentierten zeitlichen Zusammenhang ( $\leq 30$  Tagen) zwischen Impfung und IMHA in insgesamt zwölf retrospektiven Publikationen gefunden. Entsprechend den im Konsensusstatement angewendeten Kriterien zur Kausalitätsbeurteilung konnte in keiner

Veröffentlichung ein Zusammenhang zwischen Impfung und IMHA mit hohem Evidenzgrad bestätigt werden (GARDEN et al., 2019): Sieben Publikationen detektierten lediglich eine vernachlässigbare Assoziation (JACKSON & KRUTH, 1985; KLAG et al., 1993; REIMER et al., 1999; GOGGS et al., 2008; WARMAN et al., 2010; KIDD et al., 2014; GOGGS et al., 2015) und drei weitere eine geringgradige Assoziation mit einem integrierten Evidenzmaß (integrated metric of evidence (IME)) von 3 bis 4 (DODDS, 1983; BURGESS et al., 2000; WEINKLE et al., 2005).

Nur zwei Studien wurden gezielt mit der Intention durchgeführt, einen möglichen Zusammenhang zwischen Impfung und IMHA zu untersuchen (DUVAL & GIGER, 1996; CARR et al., 2002). Eben diese beiden Studien zeigten genau konträre Ergebnisse. Während die Untersuchung von DUVAL und GIGER aus dem Jahr 1996 im Konsensusstatement mit einem IME-Wert von knapp 6 bewertet wurde, welcher für ein hohes Maß an Komorbidität spricht, wurde eine neuere Studie aus dem Jahr 2002 von CARR et al. mit einem IME-Wert von 0 bewertet, was bedeutet, dass hier eine Evidenz vorliegt, die gegen eine Komorbidität spricht (GARDEN et al., 2019). So konnte in der Studie von CARR et al., die insgesamt 72 Krankenberichte von Hunden mit IMHA einschloss, kein Zusammenhang mit einer kürzlich dokumentierten Impfung festgestellt werden (CARR et al., 2002). Dagegen bestand in der Studie von DUVAL und GIGER für die IMHA-Gruppe (n = 58) im direkten Vergleich zu einer Kontrollgruppe aus 70 Hunden, die im gleichen Untersuchungszeitraum wegen anderer Gründe außer IMHA, Anämie oder immunmedierte Erkrankungen vorgestellt wurden, eine deutliche statistische Häufung für eine Vorstellung in kurzem zeitlichem Abstand zur Impfung: 26 % der Hunde mit IMHA (15/58) wurden innerhalb der ersten vier Wochen (Median = 14 Tage) nach einer Impfung vorgestellt. In den übrigen Fällen von IMHA (43/58) wurde ein zeitlicher Abstand von zwei bis zu 55 Monaten nach Impfung nachgewiesen, wobei 70 % der Hunde (30/43) innerhalb von zwölf Monaten nach Impfung und 30 % der Hunde (13/43) zwischen 13 bis 55 Monaten nach Impfung vorstellig wurden. Bei den vorangegangenen Impfungen waren Produkte verschiedener Hersteller eingesetzt worden: Alle 58 Hunde hatten die Komponenten CDV, CPV, CAV-2, Leptospirose, Parainfluenza und Tollwut erhalten; drei Hunde waren zudem mit inaktiviertem *Borrelia*-Bakterin, zwei Hunde mit *Bordetella*-Bakterin und ein Hund mit CCoV geimpft worden. Die 15

Hunde, die innerhalb der ersten vier Wochen nach Impfung erkrankten, hatten eine MLV gegen CDV, CPV, CAV-2 und Parainfluenza erhalten, sowie in 14 von 15 Fällen inaktiviertes *Leptospira*-Bakterin (DUVAL & GIGER, 1996).

Die Kausalitätsbeurteilung des ACVIM-Konsensusstatements schloss Daten aus Studien aus, denen eine unsichere IMHA-Diagnose zugrunde lag (DODDS, 1995; FRANA et al., 2008), bei denen andere Ursachen für die IMHA möglich waren (YUKI, 2011; ONG et al., 2015) oder bei denen genauen Angaben zum Impfstatus (DAY & PENHALE, 1992; BEXFIELD et al., 2005; MORLEY et al., 2008; PIEK et al., 2008; SINNOTT & OTTO, 2009) oder zum Impfzeitpunkt fehlten (STOKOL et al., 2000). Zudem gab es Publikationen, die ausschließlich Patienten mit primärer idiopathischer IMHA untersucht und deshalb Hunde mit kürzlicher Impfhistorie ausdrücklich ausgeschlossen hatten (WEISS & BRAZZELL, 2006; HORGAN et al., 2009; ISHIHARA et al., 2010; ORCUTT et al., 2010); diese Studien wurden in der Kausalitätsbeurteilung ebenfalls nicht berücksichtigt. Auf Grundlage der ausgewerteten Daten kamen die ACVIM-Experten zu dem Schluss, dass die Frage, ob Impfungen einen Trigger für IMHA bei Hunden darstellen, aufgrund fehlender Evidenz nicht zu beantworten sei (GARDEN et al., 2019). Diese Gesamteinschätzung wurde mit einer Brücke zur Humanmedizin abgerundet, wo die Evidenz für eine Triggerung immunmediierter Erkrankungen durch Impfungen ebenfalls noch aussteht (WRAITH et al., 2003). Insgesamt ist festzustellen, dass Fall-Kontrollstudien als Instrument zur Kausalitätsbeurteilung generell nur dann geeignet sind, wenn entsprechend gründlich alle relevanten Aspekte, v. a. auch eine detaillierte Impfhistorie einschließlich der eingesetzten Produkte, ermittelt werden. Doch selbst dann müssten aufgrund der Vielzahl, der auf dem Markt verfügbaren Impfstoffe eine große Zahl an Patienten eingeschlossen werden, um statistisch signifikante Unterschiede und kausale Zusammenhänge nachzuweisen (MOORE & HOGENESCH, 2010).

#### **2.3.1.2.2. Immunmedierte Thrombozytopenie**

In der Humanmedizin sind Fälle von ITP (hier auch bekannt als idiopathische oder immunologische thrombozytopenische Purpura) eine seltene, aber bekannte Komplikation nach Impfung gegen verschiedene Viruserkrankungen. So gibt es dokumentierte Assoziationen zu Impfungen v. a. gegen MMR (NIEMINEN et al., 1993; MILLER et al., 2001; BLACK et al., 2003; SCHATTNER, 2005; RAJANTIE et al., 2007; FRANCE et al., 2008; BERTUOLA et al., 2010;

DEMICHELI et al., 2012; CECINATI et al., 2013), aber auch Hepatitis-B (NEAU et al., 1998; SCHATTNER, 2005), FSME (BENZ et al., 2009) oder Influenza (TISHLER et al., 2006; DIAS & GOPAL, 2009). Bei einer MMR-Impfung von Kindern wird ein Kausalzusammenhang als wahrscheinlich bewertet (DITTMANN, 2002). Allerdings ist von einer niedrigen Inzidenz mit einem geschätzten Risiko von 1 : 22.000 bis 1 : 40.000 auszugehen (NIEMINEN et al., 1993; MILLER et al., 2001; BLACK et al., 2003; RAJANTIE et al., 2007; FRANCE et al., 2008; BERTUOLA et al., 2010), also von etwa ein bis drei Fällen von ITP pro 100.000 Impfdosen (CECINATI et al., 2013). Im Vergleich dazu liegt die Inzidenz von ITP bei einer natürlichen Infektion mit Masern (ca. 1 : 6.000) oder Röteln (ca. 1 : 3.000) um ein Vielfaches höher. In zwei von drei Fällen tritt eine ITP, die in zeitlichem Zusammenhang mit der Anwendung von MMR-Vakzinen steht, innerhalb von sechs Wochen nach Impfung auf (MILLER et al., 2001) und die Symptome sind fast immer akut (RAJANTIE et al., 2007). Bei betroffenen Patienten werden die niedrigsten Thrombozytenwerte durchschnittlich 19 Tage nach der Impfung gemessen, wobei ein Abfall auf 1.000 Thrombozyten/Mikroliter ( $\mu\text{l}$ ) nicht ungewöhnlich ist (NIEMINEN et al., 1993). Abgesehen von der tiefen Thrombozytenzahl entwickeln betroffene Kinder meist nur eine milde Erkrankung ohne schwere Blutungen oder lange Krankenhausaufenthalte (BERTUOLA et al., 2010). Daher wird eine postvakzinale ITP bei Kindern als seltenes, meist benignes Ereignis eingestuft, bei dem eine vollständige Genesung innerhalb von ein bis drei Monaten zu erwarten ist (JADAVJI et al., 2003; SAUVÉ et al., 2010). Die meisten Kinder erreichen innerhalb eines Monats wieder Thrombozytenzahlen  $> 100.000/\mu\text{l}$  (NIEMINEN et al., 1993). Nur selten (ca. 10 % der Fälle) hält eine Thrombozytopenie länger als sechs Monate an (RAJANTIE et al., 2007). Untersuchungen von Knochenmarkaspiraten erkrankter Kinder bestätigten in vielen Fällen eine normale bis erhöhte Megakaryozytenzahl. Allerdings wurden z. T. eine verkürzte Lebenszeit der Thrombozyten und erhöhte Werte für thrombozytenassoziiertes Immunglobulin (10/15 Patienten) sowie zirkulatorische Thrombozyten-Antikörper (5/15 Patienten) nachgewiesen (NIEMINEN et al., 1993).

Bei Hunden konnte ein Kausalzusammenhang zwischen ITP und bestimmten Impfungen bis dato nicht definitiv nachgewiesen werden (HUANG et al., 2012). Dennoch wird eine Thrombozytopenie in verschiedenen Veröffentlichungen als



potentielle unerwünschte Wirkung nach MLV-Impfung von Hunden angeführt (DODDS, 1993, 1999, 2001; DODDS, 2005; GREENE & LEVY, 2012). Dabei wird meist eher von einer transienten, milden Verlaufsform (selten  $< 100.000$  Thrombozyten/ $\mu\text{l}$ ) ohne klinische Symptome und Veränderungen in der Plättchenfunktion ausgegangen. Diese subklinische, rein quantitative Thrombozytopenie wird nur bei Hunden mit zusätzlich erhöhter Blutungsneigung aufgrund von Begleiterkrankungen als klinisch relevant erachtet. In Einzelfällen wird aber auch eine schwere Thrombozytopenie ( $< 50.000$  Thrombozyten/ $\mu\text{l}$ ) mit Petechien und Blutungen als mögliche Komplikation innerhalb von ein bis zwei Wochen nach einer Impfung genannt (GREENE & LEVY, 2012). Diese Einschätzung gründet sich v. a. auf Fallberichte der älteren Literatur. Hier finden sich Beschreibungen von Thrombozytopenien bei Hunden in zeitlichem Zusammenhang mit MLV-Impfungen gegen Staupe (in den damaligen Publikationen z. T. auch bezeichnet als (Para-) Myxovirus) (PINEAU et al., 1980; JONES, 1984; MCANULTY & RUDD, 1985) oder Staupe und HCC (STRAW, 1978). PINEAU et al. dokumentierten eine signifikante Reduktion (knapp 50 %) der Thrombozytenzahlen innerhalb von 48 Stunden nach einer „Myxovirusimpfung“ (PINEAU et al., 1980). Nur in einem Fall wurde eine hochgradige Thrombozytopenie ( $< 10.000$  Thrombozyten/ $\mu\text{l}$ ) mit Hämatochezie und Meläna beobachtet. Diese trat acht Tage nach einer Staupevirusimpfung auf und blieb über einen Zeitraum von fünf Tagen bestehen, bevor eine spontane Remission einsetzte (MCANULTY & RUDD, 1985). Der genaue Pathomechanismus, ebenso wie konkrete Zahlen zur Inzidenz einer postvakzinalen Thrombozytopenie, ist bei Hunden nicht bekannt (MOORE & HOGENESCH, 2010). Bei der Anwendung von Staupe-MLV sind verschiedene Möglichkeiten denkbar, durch die es zu einer Thrombozytopenie kommen kann. Eine immunmedierte Plättchenzerstörung könnte nicht nur durch Autoantikörper, sondern auch durch Immunkomplexe aus Impfantigen und Antikörpern auf der Thrombozytenmembran vermittelt sein. Weiter ist eine Bildungsstörung durch Infektion der Megakaryozyten im Knochenmark vorstellbar. Bei experimenteller Staupevirusinfektion wurden ab dem siebten Tag post infectionem plättchengebundenes CDV-Antigen und IgG-Antikörper nachgewiesen. Die durchschnittliche Megakaryozytenzahl im Knochenmark infizierter Hunde war im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht reduziert; allerdings war im späteren Krankheitsverlauf (etwa ab dem achten Tag post infectionem) eine virale Infektion

der Megakaryozyten evident (AXTHELM & KRAKOWKA, 1987).

HUANG et al. untersuchten als erste gezielt, ob bei Hunden eine kausale Assoziation zwischen ITP und Impfung besteht. In die retrospektive Fallkontrollstudie wurden 38 Hunde mit mutmaßlicher ITP und 96 alterskonforme Hunde ohne immunmedierte Erkrankung eingeschlossen. Hinsichtlich einer Vorstellung in zeitlichem Zusammenhang zur Impfung konnte kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,361$ ) zwischen beiden Gruppen ermittelt werden. Tatsächlich wurden nur 8 % der Hunde mit ITP (4/48) im Zeitraum von 42 Tagen nach einer Impfung vorgestellt (HUANG et al., 2012). Weiter berichteten PUTSCHE und KOHN, dass keiner der von ihnen retrospektiv ausgewerteten Fälle von ITP ( $n = 30$ ) mit einer Impfung innerhalb der letzten vier Wochen in Verbindung stand (PUTSCHE & KOHN, 2008). Dennoch reiche die Datenlage laut Auffassung von HUANG et al. nicht aus, um einen Kausalzusammenhang sicher auszuschließen (HUANG et al., 2012). Außerdem könnten aufgrund der vermutlich oft transienten, subklinischen Verlaufsform viele Fälle von postvazinaler ITP bei Hunden ohne routinemäßige Laborkontrolle innerhalb von zwei Wochen nach Impfung verpasst werden (MOORE & HOGENESCH, 2010).

#### **2.3.1.2.3. Lymphozytäre Thyreoiditis**

Aufgrund der Häufigkeit von Hypothyreose bei Hunden wurde vermutet, dass dies auch mit der vermehrten Verwendung von MLV-Impfstoffen und der Induktion von Autoantikörpern in Zusammenhang stehen könnte (HOGENESCH et al., 1999). Weiterhin ist denkbar, dass eine Kontamination von Impfstoffen mit Fremd-Thyreoglobulin, vorrangig bovinen Ursprungs aufgrund des bei der Produktion eingesetzten fetalen Kälberserums, Thyreoglobulin-Antikörper bei geimpften Hunden induzieren könnte (TIZARD, 2018i).

Beim Hund wird eine funktionelle Hypothyreose überwiegend durch primäre Erkrankungen der Schilddrüse verursacht (GOSSELIN et al., 1982); über 50 % der Fälle liegt wahrscheinlich eine lymphozytäre Thyreoiditis zugrunde (GRAHAM et al., 2001). Ähnlich wie bei der autoimmunen Thyreoiditis beim Menschen vermutet man auch hier eine primär immunmedierte Erkrankung (GOSSELIN et al., 1982; HAPP, 1995), zumindest aber einen Prozess mit fehlerhafter Immunregulation (BEALE et al., 1990; GRAHAM et al., 2001). Obwohl die Zerstörung des caninen Schilddrüsengewebes weitgehend durch eine direkte T-Zell-Toxizität erklärt wird,

wird auch Autoantikörpern eine Bedeutung in der Pathogenese beigemessen (DAY & SCHULTZ, 2014j; TIZARD, 2018p). Bei autoimmunen Thyreoiditiden des Menschen werden meist Antikörper gegen Thyreoperoxidase und/oder Thyreoglobulin nachgewiesen (MARIOTTI et al., 1990; TIZARD, 2018p). Ein vergleichbarer diagnostischer Ansatz wird auch bei hypothyreoten Hunden verfolgt, bei denen neben Thyreoglobulin-Antikörpern (BEALE et al., 1990; YOUNG et al., 1991; THACKER et al., 1992; BORETTI et al., 2003) zu einem kleineren Teil auch Antikörper gegen Trijodthyronin (CHASTAIN et al., 1989; YOUNG et al., 1991; KEMPPAINEN et al., 1996; THACKER et al., 1992) und Thyroxin (THACKER et al., 1992; KEMPPAINEN et al., 1996) gefunden werden. Antikörper gegen Thyreoperoxidase wurden dagegen nicht detektiert (THACKER et al., 1995). Nicht alle Hunde mit Thyreoiditis, je nach Veröffentlichung etwa 33 bis 63 % (HAINES et al., 1984; DEEG et al., 1997; NACHREINER et al., 1998; DIXON & MOONEY, 1999; BORETTI et al., 2003), haben nachweisbare Thyreoglobulin-Antikörper. Nach wie vor besteht eine Restunsicherheit, ob Thyreoglobulin-Antikörper beim Hund tatsächlich primär in die Initialisierung der lymphozytären Thyreoiditis involviert sind oder erst sekundär bei der Schädigung von Schilddrüsengewebe durch T-Zell-Infiltrate induziert werden (TOMER, 1997). In retrospektiven Datenanalysen wurden bestimmte Risikorassen für canine Hypothyreose ermittelt, z. B. Airedale Terrier, Dachshund, Deutscher Boxer, Dobermann, Cocker Spaniel, Golden Retriever, Irischer Setter, Shetland Sheepdog, Pomeranian, Pudel oder (Zwerg-) Schnauzer (NESBITT et al., 1980; MILNE & HAYES, 1981; PANCIERA, 1994). Erst kürzlich wurde auch eine erhöhte Prävalenz bei Eurasiern festgestellt (SCHLIPF, 2019). Zusätzlich wurde auch eine familiäre Prädisposition innerhalb bestimmter Rassen, z. B. Beagle und Deutschen Doggen, beschrieben; hier weisen verwandte Tiere häufig Thyreoglobulin-Antikörper auf, ohne hypothyreot zu sein (FRITZ et al., 1970; HAINES et al., 1984; TIZARD, 2018p). Während Dobermänner häufig schon im jungen Alter Symptome einer Hypothyreose entwickeln, erkranken Hunde anderer Rassen erst im fortgeschrittenen Alter (TIZARD, 2018p). Faktoren, die die Progression einer subklinischen Thyreoiditis zu einer klinischen Hypothyreose beeinflussen, sind beim Hund noch nicht genau bekannt (GRAHAM et al., 2001).

Verschiedene Veröffentlichungen diskutierten Impfungen als Trigger für canine Thyreoiditis (SMITH, 1995; DODDS, 2001, 2002). Nur wenige Studien

untersuchten allerdings bisher einen möglichen Zusammenhang zwischen der Induktion von Thyreoglobulin-Antikörpern und Impfungen. HOGENESCH et al. gelang zuerst der Nachweis, dass bei der Impfung von Hunden nach standardmäßigem Impfprotokoll verschiedene Autoantikörper induziert werden (siehe auch 2.3.1.2.). Doch wurde bei den geimpften Hunden, allesamt Beagle aus einer Versuchstierzucht, kein Anstieg der Thyreoglobulin-Antikörper detektiert. Weiterhin konnte kein eindeutiger Hinweis auf eine Schilddrüsendysfunktion nachgewiesen werden. Lediglich bei einem Hund wurde ein „Knötchen“ in der Schilddrüse gefunden (HOGENESCH et al., 1999). Dies sei, laut den Autoren der Studie, als häufige Läsion bei Versuchsbeaglen bekannt (FRITZ et al., 1970) und könne als Frühmanifestation einer Thyreoiditis interpretiert werden (HOGENESCH et al., 1999). In einer späteren Untersuchung ermittelten SCOTT-MONCRIEFF et al. gezielt canine und bovine Thyreoglobulin-Antikörper bei Laborbeaglen (n = 20) sowie bei adulten Hunden in Privatbesitz (n = 16) zu definierten Zeitpunkten vor und nach der Impfung. Die Beagle, eine Rasse mit bekannter familiärer Prädisposition für Hypothyreose (siehe oben), wurden in Gruppen zu jeweils fünf Hunden unterteilt und erhielten unterschiedliche Impfstoffe: (1) Kombinations-MLV plus inaktivierte Tollwutvakzine, (2) Kombinations-MLV oder (3) nur inaktivierte Tollwutvakzine; die restlichen fünf Hunde bildeten die ungeimpfte Kontrollgruppe. Die Kombinations-MLV wurde in den Lebenswochen acht, zehn, zwölf, 16, 20, 26 und 52 und danach alle sechs Monate verabreicht; die Tollwutvakzine in den Lebenswochen 16, 52 und anschließend alle zwölf Monate. Antikörper gegen bovines und canines Thyreoglobulin wurden jeweils vor und zwei Wochen nach der jährlichen Impfung gemessen. Die Privathunde, alle klinisch gesund und mindestens einmal vor  $\geq$  zwölf Monaten geimpft, erhielten jeweils eine Impfung mit der Kombinations-MLV plus der inaktivierten Tollwutkomponente; auch hier wurden vor- und nachher die bovinen und caninen Thyreoglobulin-Antikörperspiegel bestimmt. Bei den geimpften Laborbeaglen wurde, unabhängig vom Impfstoff, im Vergleich zur ungeimpften Kontrollgruppe jeweils ein signifikanter Anstieg der bovinen Thyreoglobulin-Antikörper detektiert; in den zwei Gruppen von Hunden, die die Tollwutvakzine erhalten hatten (nicht in der Gruppe, die ausschließlich die MLV-Impfungen erhalten hatte), wurde zudem ein signifikanter Anstieg der caninen Thyreoglobulin-Antikörper gemessen. Die Autoren stellten die Hypothese auf, dass beide Vakzinen in der Lage sind, Antikörper gegen bovines Thyreoglobulin zu

induzieren, aber nur die Tollwutvakzine Antikörper induziert, die auch mit caninem Thyreoglobulin reagieren. Die Vermutung, dass in den verwendeten Impfstoffen bovines Thyreoglobulin enthalten war, konnte mit den in der Studie eingesetzten Nachweismethoden nicht bestätigt werden. Bei den Hunden in Privatbesitz wurde zwei Wochen nach der Impfung ausschließlich ein Anstieg der caninen, nicht aber der bovinen Thyreoglobulin-Antikörper nachgewiesen. Wie lange diese Antikörper bestehen bleiben und, ob sie eine pathophysiologische Signifikanz besitzen, konnte in der Studie nicht geklärt werden. Auch wurde die Epitopen-Spezifität der Thyreoglobulin-Antikörper nicht weiter bestimmt, was laut Auffassung der Autoren möglicherweise für die Entwicklung einer Thyreoiditis von Bedeutung sei. Sie gaben an, dass bei gesunden Menschen häufig Thyreoglobulin-Antikörper nachgewiesen werden, die sich allerdings strukturell von Autoantikörpern von Menschen mit immunmedierten Schilddrüsenerkrankungen unterscheiden (TOMER, 1997); während Antikörper von erkrankten Menschen (womöglich aufgrund antigenetischer Unterschiede im Thyreoglobulin) nur eine eingeschränkte Epitopen-Spezifität aufweisen, seien Thyreoglobulin-Antikörper gesunder Menschen polyklonal hinsichtlich ihrer Epitopen-Erkennung (SCOTT-MONCRIEFF et al., 2002). Postmortale histopathologische Untersuchungen der Beagle im Alter von 5,5 Jahren ergaben keinen Beweis, dass wiederholte routinemäßige Impfungen zu einer immunmedierten Thyreoiditis bei Hunden führen. Da aber auch in der ungeimpften Kontrollgruppe eine unerwartet hohe Prävalenz von Thyreoiditis auftrat, war die Trennschärfe der Untersuchung, eine solche Assoziation nachweisen zu können, eingeschränkt (SCOTT-MONCRIEFF et al., 2006).

#### **2.3.1.2.4. Interstitielle Nephritis**

FINCH et al. konnten nachweisen, dass häufige Impfungen bei Katzen das Risiko erhöhen, eine chronische Nierenerkrankung zu entwickeln (FINCH et al., 2016). Dies könnte mit der Induktion von Antikörpern gegen zelluläre Antigene artverwandter Crandell-Rees-feline-kidney- (CRFK) Zellen in Zusammenhang stehen. Sie werden als Kulturmedium bei der Anzucht von Impfviren, z. B. felines Herpesvirus-1 (FHV-1), felines Calicivirus (FCV) und FPV, eingesetzt und können als immunologisch aktive Reste im Endprodukt enthalten sein. So konnte in einer experimentellen Studie gezeigt werden, dass bei parenteraler Impfung gegen FHV-1, FCV und FPV tatsächlich Antikörper gegen CRFK-Proteine gebildet wurden, die

mit feline Nierenzellextrakten kreuzreagierten (LAPPIN et al., 2005). Obwohl ein Kausalzusammenhang mit der Entwicklung einer interstitiellen Nephritis vermutet wird, konnten unter kontrollierten Studienbedingungen bislang keine klinisch-pathologischen oder histologischen Beweise für die Induktion einer Nierenerkrankung durch impfinduzierte CRFK-Antikörper bei Katzen gefunden werden (LAPPIN et al., 2005; LAPPIN et al., 2006). Lediglich nach Sensibilisierung mit CRFK-Zelllysaten wurde die Induktion einer lymphoplasmazellulären interstitiellen Nephritis durch eine Nierenbiopsie bestätigt (LAPPIN et al., 2006). Einige der CRFK-Antigene,  $\alpha$ -Enolase, Annexin-A2 und Makrophagen-Capping-Protein, konnten zwischenzeitlich identifiziert werden, und ein Western-Blot-Verfahren wurde zum Nachweis spezifischer Antikörper validiert. Obwohl die klinische Relevanz dieser Antikörper zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht geklärt ist, vermuteten die Autoren der Studie einen Zusammenhang mit Nephritis und immunmedierten Erkrankungen. So seien  $\alpha$ -Enolase- und Annexin-A2-Antikörper beim Menschen mit immunmedierten Erkrankungen assoziiert und speziell  $\alpha$ -Enolase-Antikörper als Nephritis-auslösend bekannt (WHITTEMORE et al., 2010). Auch MLV für Hunde werden z. T. in caninen Nierenzellen produziert, z. B. CAV-2-Antigen in epithelialen Madin-Darby-canine-kidney- (MDCK) Zellen (INTERVET DEUTSCHLAND GMBH, 2015), die im Jahr 1958 aus dem Nierengewebe eines klinisch gesunden, adulten weiblichen Cocker Spaniels gewonnen wurden (AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION (ATCC), 2019). Daten über eine Antikörperbildung gegen MDCK-Proteine bei Hunden nach Impfung sind allerdings nicht verfügbar.

#### **2.3.1.2.5. Akute immunmedierte Polyradikuloneuritis**

Auch verschiedene immunmedierte neurologische Erkrankungen können in zeitlichem Zusammenhang mit einer Impfung von Hunden und Katzen auftreten (GREENE, 2003). Mit Ausnahme der akuten Polyradikuloneuritis, bei der ein ähnlicher Pathomechanismus wie beim GBS vermutet wird, und der Virulenzreversion neurotroper Impfantigene, wie CDV oder Tollwut, die in isolierten Fällen klinische Symptome der spezifischen Infektionserkrankung auslösen konnten (siehe auch 2.1.3.1. und 2.3.1.9.), sind die immunologischen Mechanismen neurologischer Komplikationen in Zusammenhang mit Impfungen noch weitestgehend unbekannt (MOORE & HOGENESCH, 2010). Hypersensitivitätsreaktionen können jedoch auch das ZNS und periphere Neurone

betreffen, sodass neurologische Erkrankungen beim Hund grundsätzlich immer auch in Zusammenhang mit Impfungen beurteilt werden sollten (TIZARD, 1990; COLLINS, 1994; DODDS, 1999).

Das GBS ist wahrscheinlich das bestdokumentierte Phänomen einer impfinduzierten immunmedierten Erkrankung überhaupt (SIEGRIST, 2007b; TOUSSIROT & BEREAU, 2015). Dieses Syndrom war 1976/77 in den USA in Folge einer Massenimpfung gegen Schweinegrippe (A/New Jersey/76 (H1N1)) innerhalb weniger Wochen nach Beginn der Kampagne mit hoher Inzidenz, geschätzt zwischen 0,49 und 0,59 Fälle pro 100.000 Impfungen (LANGMUIR et al., 1984), in der geimpften Bevölkerung aufgetreten. Die damaligen Impfstoffe sind inzwischen nicht mehr auf dem Markt (INSTITUTE OF MEDICINE, 2004); das Auftreten von GBS wurde aber seither mit entsprechend hoher Aufmerksamkeit auch in Zusammenhang mit anderen (Influenza-) Impfstoffen, z. B. im Jahr 2009 mit neuen inaktivierten adjuvanten Influenza-A-Vakzinen (H1N1v) (2010; ANDREWS et al., 2011; DIELEMAN et al., 2011; GRIMALDI-BENSOUA et al., 2011; DE WALS et al., 2012; TOKARS et al., 2012; DODD et al., 2013; SALMON et al., 2013; ROMIO et al., 2014) wie auch saisonalen Grippeimpfstoffen (KAPLAN et al., 1982; LASKY et al., 1998; HUGHES et al., 2006; JUURLINK et al., 2006; STOWE et al., 2009) epidemiologisch überwacht (HABER et al., 2009). Alle Studien ergaben entweder ein geringfügig erhöhtes oder kein erhöhtes Risiko für GBS nach Impfung mit verschiedenen Influenza-A/H1N1v- und saisonalen Influenzaimpfstoffen. Auch das Paul-Ehrlich-Institut untersuchte im Jahr 2009/2010 einen möglichen zeitlichen Zusammenhang zwischen pandemischer Influenza-A/H1N1v-Impfung und saisonaler Gripeschutzimpfung und dem GBS sowie dem Miller-Fisher-Syndrom, einer seltenen Variante des GBS. Obwohl eine Verzerrung der Daten aufgrund der zeitlichen Überschneidung der Impfkampagne mit dem Gipfel der Pandemie nicht auszuschließen war, deutete das Ergebnis ein erhöhtes Risiko eines GBS innerhalb eines Zeitraums von fünf bis 42 Tagen nach der Impfung gegen Influenza A/H1N1v an. In Zusammenhang mit der saisonalen Gripeschutzimpfung war hingegen kein erhöhtes Risiko innerhalb des kritischen Zeitraums von 5 bis 42 Tagen im Vergleich zum Kontrollzeitraum von 43 bis 150 Tagen nach der Impfung festzustellen (PAUL-EHRLICH-INSTITUT (BUNDESINSTITUT FÜR IMPFSTOFFE UND BIOMEDIZINISCHE ARZNEIMITTEL), 2014). In Einzelfällen wird ein Kausalzusammenhang auch mit

FSME-, Diphtherie-Tetanus- und monovalentem Tetanus-Impfstoff (THIEDE & ZIMMERMANN, 2015) erörtert und von der STIKO als „überwiegend wahrscheinlich“ eingeschätzt (DITTMANN, 2002). Auch für ältere Tollwutimpfstoffe, die aus Gehirngewebe von Säugetieren gewonnen wurden, ist ein erhöhtes Risiko für GBS beschrieben; dies ist aber für neuere Formulierungen, bei denen die Anzucht der Impfviren in Hühnerembryozellen erfolgt, nicht mehr zutreffend (HABER et al., 2009). Mit einer Inzidenz von insgesamt ein bis zwei Fällen pro 100.000 Einwohnern (THIEDE & ZIMMERMANN, 2015) gilt das GBS als häufigster Grund einer akuten schlaffen Lähmung in der Post-Polio-Ära (INSTITUTE OF MEDICINE, 2004). Obwohl inzwischen verschiedene Varianten des GBS beschrieben wurden, stellt die akute inflammatorisch demyelinisierende Polyradikuloneuropathie die klassische und, mit einem Anteil von etwa 90 %, die zugleich häufigste Form des GBS in der westlichen Welt dar (INSTITUTE OF MEDICINE, 2004; VUCIC et al., 2009). Charakteristisch ist eine lympho- und makrophagozytäre Infiltration im Bereich der peripheren Nerven und v. a. der Nervenwurzeln, die zur Zerstörung des Myelins und/oder, speziell bei schweren axonalen Verlaufsformen, des Axons führen. Die Pathogenese ist noch nicht vollständig bekannt; es gibt Hinweise für eine Beteiligung der T-Zell-Immunität, aber auch der humoralen Immunität in Form von Zytokinen und Antikörpern (z. B. gegen verschiedene Ganglioside) sowie des Komplementsystems. Dabei könnte ein molekulares Mimikry zwischen Gangliosid-ähnlichen Epitopen (wie sie z. B. in den Bakterienwänden von *Campylobacter jejuni* beschrieben wurden) und Gangliosiden peripherer Nervenmembranen die Autoimmunität triggern (VAN DER MECHÉ et al., 2001; DALAKAS, 2013; ELDAR & CHAPMAN, 2014; ASTHANA et al., 2015; BOURQUE et al., 2015). Klinisch zeigen betroffene Personen v. a. eine akute Untere-Motoneuron- (UMN) Paralyse mit unterschiedlich stark ausgeprägter Schwäche, sensorischen Störungen und autonomer Dysfunktion (INSTITUTE OF MEDICINE, 2004; VUCIC et al., 2009).

Ein ähnliches Syndrom, die akute immunmedierte Polyradikuloneuritis, ist auch bei Hunden beschrieben. Da die Erkrankung erstmals im Zusammenhang mit Biss- oder Kratzverletzungen durch Waschbären erwähnt wurde, ist sie in Anlehnung an die zur Waschbärjagd gezüchteten Coonhounds auch als „Coonhound-Paralyse“ bekannt (KINGMA & CATCOTT, 1954). Ursächlich wird eine Kreuzreaktion zwischen Antigenen im Waschbär-Speichel und Myelinproteinen auf peripheren



Nerven postuliert, in deren Folge es, ähnlich wie beim GBS, zu Demyelinisierung und axonaler Degeneration mit progressiver UMN-Paralyse kommt. Aufgrund der Ähnlichkeit wurde die Erkrankung auch als natürliches Modell für das GBS verwendet (CUMMINGS & HAAS, 1972; HOLMES et al., 1979; NORTHINGTON & BROWN, 1982). Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten viele Gemeinsamkeiten zwischen erkrankten Hunden und Menschen, z. B. mononukleäre Zellinfiltrate an den betroffenen Nerven und Nervenwurzeln, segmentale Myelinveränderungen und Axondegeneration; allerdings wurde bei Hunden häufiger eine Axonschädigung nachgewiesen, und die Demyelinisierung schien nicht von der Initialisierung durch Makrophagen bestimmt zu sein (CUMMINGS et al., 1982). Feine Unterschiede wurden auch in der elektrophysiologischen Diagnostik bestätigt; somit scheint die akute canine Polyradikuloneuritis der akuten axonalen oder intermediären Form beim Menschen am nächsten zu kommen (CUDDON, 1998).

Trotz der Gemeinsamkeiten mit dem GBS beim Menschen, wird eine Assoziation zwischen akuter immunmedierte Polyradikuloneuritis und Impfung beim Hund nur selten beschrieben (MOORE & HOGENESCH, 2010; GREENE & LEVY, 2012; TIZARD, 2018p). Ähnlich wie bei der natürlichen Verlaufsform ist auch bei der Impfung von einem maximalen Effekt innerhalb von zehn bis zwölf Tagen nach Antigenkontakt auszugehen (GEHRING & EGGARS, 2001; TIZARD, 2018p). In der Literatur finden sich einzelne Fallberichte nach Anwendung verschiedener Impfstoffe, z. B. multivalenter MLV gegen CDV, CAV-2, CPV und Parainfluenza (SCHRAUWEN & VAN HAM, 1995; GEHRING & EGGARS, 2001). Eine hohe Inzidenz wurde auch nach Anwendung bestimmter Chargen von Tollwutimpfstoffen beschrieben; mehrere Hunde entwickelten ein bis zwei Wochen nach der Impfung eine transiente UMN-Paralyse. Da Tollwutvirus für Impfstoffe damals noch aus dem Gehirngewebe infizierter Mäuseembryonen gewonnen wurde, lag die Vermutung nahe, dass in den betroffenen Vakzinen versehentlich myelinhaltiges Nervengewebe enthalten war und eine überschießende Immunreaktion eine Demyelinisierung der Nerven geimpfter Hunde ausgelöst hatte (GREENE & LEVY, 2012).

Eine andere, eventuell rassespezifische, Komplikation wurde in Zusammenhang mit der Anwendung polyvalenter, CDV-haltiger MLV beschrieben. So gingen beim PEI im Jahr 2012 drei Meldungen zu neurologischen Symptomen bei fünf Welpen

der Rasse Deutscher Pinscher ein, die in engem zeitlichem Zusammenhang mit einer MLV-Erstimpfung in der achten Lebenswoche standen; Nachforschungen ermittelten zwei weitere betroffene Welpen eines Wurfes aus dem Jahr 2005. Bei allen Hunden waren innerhalb weniger Tage nach der Impfung zentralnervöse Symptome aufgetreten. Das klinische Bild war v. a. gekennzeichnet durch Ataxie, Tremor, Zuckungen, Bewusstseinsverlust, Krämpfen und z. T. Halsbiegeschmerz. Symptome wurde frühestens am vierten Tag nach der Impfung beobachtet; in einem Fall lagen 16 Tage zwischen Impfung und Vorstellung (CÜBLER & SCHWEDINGER, 2012). Recherchen ergaben, dass skandinavische Meldebehörden bereits einige Jahre zuvor vergleichbare Fälle bei Pinschern registriert hatten (LEPPÄNEN, 2005; HOLM, 2006; TJÄLVE, 2006; LUND, 2009). Symptome traten hier typischerweise neun bis zwölf Tage nach einer MLV-Erstimpfung auf; immer war eine CDV-Komponente im Impfstoff enthalten. Als Symptome wurden zunächst Fieber und Lethargie, gefolgt von neurologischen Symptomen, ähnlich den Fällen in Deutschland, beschrieben. Die meisten Hunde wurden symptomatisch behandelt und erholten sich; nachfolgende Booster-Impfungen blieben ohne unerwünschte Konsequenzen (LEPPÄNEN, 2005). Ein Welpe, der zwei Tage nach den ersten Symptomen verstarb, wurde histopathologisch untersucht. Trotz starkem Verdacht und perivaskulärer Infiltrate mononukleärer Entzündungszellen, gelang es nicht, CDV immunhistochemisch aus dem Nervengewebe nachzuweisen (TJÄLVE, 2006). Eine Staupediagnostik 15 bis 18 Tage nach der Impfung wurde z. T. auch bei betroffenen Hunden in Deutschland durchgeführt; obwohl im Liquor eines Welpen ein erhöhter Protein- und Zellgehalt eine entzündliche infektiöse Ätiologie vermuten ließ, war ein CDV-Nachweis in keinem Fall erfolgreich. Ob es sich hierbei um ein neues Krankheitsbild handelt, ist bisher nicht geklärt (CÜBLER & SCHWEDINGER, 2012).

#### **2.3.1.3. Typ-III-Hypersensitivitätsreaktionen**

Reaktionen, die einer Typ-III-Hypersensitivität zugeordnet werden, beinhalten eine wiederholte Exposition zu einem spezifischen Antigen mit Bildung und Ablage von Antigen-Antikörper-Komplexen im Gewebe und nachfolgender Entzündungsreaktion (DAY & SCHULTZ, 2014f; TIZARD, 2018l). Das Verhältnis von Antigen zu Antikörpern kann dabei variabel sein. Je nachdem, ob bei der Reaktion Antigen oder Antikörper überwiegt, können eine Antigen- oder Antikörper-Exzess-Typ-III-Hypersensitivität unterschieden werden (DAY &

SCHULTZ, 2014f). Derartige Reaktionen wurden auch in Zusammenhang mit Impfungen vermutet, z. B. wenn Impfantigen durch spezifische Antikörper lokal an der Impfstelle gebunden wird (ROTH, 1999). Geht man davon aus, dass eine Entzündungsreaktion zum Stillstand kommt, sobald das auslösende Antigen durch Antikörper oder Katabolismus entfernt wurde, erscheint es manchen Autoren allerdings fraglich, ob dieser Mechanismus für längerfristige oder dauerhafte unerwünschte Wirkungen nach Impfungen verantwortlich sein kann (INSTITUTE OF MEDICINE, 2012). Ausschließlich Lebendimpfstoffen wird durch die Fähigkeit zur Replikation das Potential für eine langanhaltende Antigenproduktion zugesprochen; Antigen aus Totimpfstoffen ist meist innerhalb weniger Wochen aus dem Körper verschwunden (siehe auch 2.1.3.1.). Folglich wird postuliert, dass Immunkomplexe und damit auch Immunkomplex-vermittelte Krankheitssymptome, die durch einen Impfstoff induziert werden, nur von kurzer Dauer sind. Antigene, die bei natürlicher Infektion schädigende Immunkomplexe induzieren, z. B. Hepatitis B beim Menschen, besitzen vermutlich das höchste Risiko für impfassoziierte unerwünschte Typ-III-vermittelte Reaktionen. Allerdings fehlt auch hier ein definitiver Beweis, z. B. durch Hepatitis-B-Oberflächen-Antigen in Immunkomplexen (INSTITUTE OF MEDICINE, 2012).

#### **2.3.1.3.1. Antikörper-Exzess-Typ-III-Hypersensitivitätsreaktionen**

Lokale Entzündungsreaktionen („Arthus-Reaktionen“) sind das klassische Bild einer Antikörper-Exzess-Hypersensitivität, bei der nach vorangegangener Sensibilisierung große Mengen antigenspezifischer IgG-Antikörper gebildet werden. Kommt es zu einer erneuten Exposition, wird das Antigen direkt an der Eintrittspforte gebunden und eine Entzündungsreaktion ausgelöst; diese umfasst eine Vasodilatation, die Einwanderung neutrophiler Granulozyten und Monozyten, eine Mastzelldegranulation und Thrombozytenaggregation. Makrophagen, die die Immunkomplexe aufnehmen, setzen proinflammatorische Zytokine, z. B. TNF- $\alpha$ , frei, die die Entzündungsreaktion weiter anregen. Die erhöhte Gefäßpermeabilität ermöglicht die Ablagerung von Immunkomplexen an der Gefäßwand (MOORE & HOGENESCH, 2010; DAY & SCHULTZ, 2014f; TIZARD, 2018l).

In Zusammenhang mit Impfungen wurden solche lokalen Typ-III-Hypersensitivitätsreaktionen beim Hund z. B. nach Applikation inaktivierter Tollwutvakzinen beschrieben. Pathologen veröffentlichten im Jahr 1986 eine Fallserie von 13 Hunden, die drei bis sechs Monate nach einer Tollwutimpfung eine

fokale Alopezie an der Impfstelle entwickelt hatten. Es waren Produkte von mindestens zwei verschiedenen Herstellern verwendet worden. Die histologische Untersuchung zeigte eine sterile Entzündung mit Hyperpigmentation, epidermaler follikulärer und adnexaler Atrophie sowie chronischer septaler Pannikulitis und Fettgewebsnekrose. In allen Biopsien war eine Vaskulitis der Arteriolen in der tiefen Epidermis und Subkutis mit perivaskulären Lymphozyten- und Plasmazellaggregaten evident. Die Pathologen vermuteten ursächlich eine lokale Antigen-Antikörper-Reaktion in Zusammenhang mit dem Impfantigen. Ergänzende Untersuchungen von drei Hautbiopsien zeigten eine milde bis moderate tollwutspezifische Fluoreszenz in den dermalen Blutgefäßwänden und im Epithel der Haarfollikel; an ähnlicher Lokalisation wurden auch IgG-Antikörper nachgewiesen. Zehn der dreizehn Hunde in der Fallserie waren Pudel (WILCOCK & YAGER, 1986). Fallberichte zu Haarverlust an der Impfstelle liegen aber auch bei verschiedenen anderen Kleinhunderassen vor, Chihuahua, Spitz, Bichon Frisé, Maltesermischling, Shih Tzu und Papillon. In fünf von sechs Fällen war dies mit der Anwendung von Tollwut- oder Tollwutkombinationsimpfstoffen assoziiert. Ob diesen Läsionen ebenfalls eine lokale Typ-III-Hypersensitivitätsreaktion zugrunde lag, kann aufgrund nicht-verfügbarer pathohistologischer Untersuchungsberichte jedoch nicht beurteilt werden (MEYER, 2001).

Ein anderes Beispiel einer fokalen Typ-III-Hypersensitivität mit Antikörper-Exzess ist das sogenannte „blue eye“, ein korneales Ödem in Folge einer anterioren Immunkomplex-Uveitis, das nach MLV-Impfung mit caninem Adenovirus-1 (CAV-1) beschrieben wurde (CARMICHAEL et al., 1975; WRIGHT, 1976; CURTIS & BARNETT, 1983; BABIUK, 1997a; POVEY & CARMAN, 1997g; MOORE & HOGENESCH, 2010; DAY & SCHULTZ, 2014f; TIZARD, 2018j, 2018l). Die lokale Immunkomplexbildung gilt als direkte Folge der Virusfreisetzung aus infizierten kornealen Endothelzellen, wodurch es sekundär zu neutrophiler Infiltration und kornealer Endothelschädigung kommt (CURTIS & BARNETT, 1983; DAY & SCHULTZ, 2014f; TIZARD, 2018l). Dieser Pathomechanismus einer natürlichen CAV-1-Infektion ist wahrscheinlich auch auf das CAV-1-Impfvirus übertragbar. Da moderne Hundeimpfstoffe den Serotyp CAV-2 enthalten, tritt dieses Phänomen in Zusammenhang mit Impfungen heute nur mehr selten auf (MEYER, 2001; GREENE & LEVY, 2012).

### 2.3.1.3.2. Antigen-Exzess-Typ-III-Hypersensitivitätsreaktionen

Bei einer Antigen-Exzess-Typ-III-Hypersensitivität werden durch Antigen-Sensibilisierung nur moderate Konzentrationen spezifischer IgG-Antikörper induziert. Bei nachfolgender Reexposition zu großen Mengen zirkulierender Antigene kommt es zur Bildung kleinerer, löslicher Immunkomplexe, die im Blutkreislauf zirkulieren, bevor sie sich im Endothel kleiner Kapillaren ablagern. Auch hier wird wieder das Komplementsystem aktiviert und eine Entzündungsreaktion initiiert; diese bleibt allerdings in erster Linie auf die Gefäßwand beschränkt. Thrombenbildung und ischämische Nekrose können eine direkte Folge der lokalen Gefäßentzündung sein. Typische Prädilektionsstellen für die Ablagerung zirkulierender Immunkomplexe sind Glomerulum, Uvea, Synovialmembran und epidermale Basalmembran. Dementsprechend multisystemisch können auch die klinischen Symptome sein (DAY & SCHULTZ, 2014f).

Bei einer ischämischen Dermatopathie in Folge einer kutanen Vaskulitis nach Impfung können zusätzlich zu einer lokalen Reaktion an der Injektionsstelle, unterschiedliche multifokale oder generalisierte Hautveränderungen auftreten (POVEY & CARMAN, 1997g; GREENE & LEVY, 2012). VITALE et al. berichteten über drei Hunde, die einige Monate nach subkutaner Tollwutimpfung zunächst eine fokale Alopezie an der Injektionsstelle entwickelt hatten. Ein bis fünf Monate später zeigten die Hunde verschiedene kutane Läsionen und z. T. linguale Erosionen/Ulzerationen. Die Veränderungen traten an Ohrrändern, Gesicht, Schwanzspitze, Pfotenballen, Ellbogen-, Sprunggelenken und anderen knöchernen Vorsprüngen auf und schlossen Alopezie, Hyperpigmentation, Krustenbildung, Erosionen und Ulzerationen ein. Histopathologisch war eine zellarme interface-Dermatitis mit muraler Follikulitis, moderater bis schwerer follikulärer Atrophie, Hyalinisierung kollagener Fasern und eine Vaskulopathie mit verminderter Durchblutung erkennbar. Parallel mit dem Einsetzen der Hautveränderungen entwickelten zwei der Hunde zusätzlich eine atrophische ischämische Myopathie. In Muskelbiopsien wurde eine perifaszikuläre Atrophie, perimysiale Fibrose sowie eine Ablagerung der Komplementkomponente C5b-9, einem Bestandteil des Membranangriffkomplexes, in den Mikrogefäßen nachgewiesen. Die histologischen Veränderungen waren von denen von Hunden mit familiärer Dermatomyositis nicht zu unterscheiden. Der spezifische Antigenstimulus für die

komplementvermittelte Mikroangiopathie konnte nicht ermittelt werden, sodass von den Autoren lediglich eine Vermutung auf mikrobielle Superantigene geäußert wurde. Die klinischen Symptome der ischämischen Vaskulopathie besserten sich mit oraler Pentoxifyllin- und Vitamin-E-Medikation (VITALE et al., 1999). Auf Basis der wenigen verfügbaren Daten können jedoch keine Zusammenhänge mit spezifischen Impfstoffkomponenten hergestellt werden (MOORE & HOGENESCH, 2010). Ebenso bleibt der genaue Pathomechanismus weiter zu untersuchen (GREENE & LEVY, 2012). Auch in der Humanmedizin werden Vaskulitiden in Zusammenhang mit Impfungen diskutiert. So gibt es z. B. Fallberichte von kutaner leukozytoklastischer Vaskulitis (hierfür gelten Immunkomplexe in der Pathogenese als wahrscheinlich) nach Influenzaimpfung älterer Menschen. Dabei ist neben palpablen Purpura der Haut, v. a. in den unteren Extremitäten, auch eine Gelenk- und/oder Nierenbeteiligung möglich (TAVADIA et al., 2003; FAMULARO et al., 2006; CAO & SUN, 2017; BARBARROJA-ESCUADERO et al., 2018).

Synoviale Immunkomplex-Ablagerungen und assoziierte entzündliche Gelenkerkrankungen werden, v. a. in Anlehnung an die Humanmedizin, als mögliche Komplikation nach einer Impfung auch bei Hunden und Katzen erwogen. Allerdings gibt es dafür bisher keine gesicherten Beweise, sodass ein möglicher Einfluss von Impfungen auf Immunkomplex-vermittelte Gelenkerkrankungen unklar bleibt (MOORE & HOGENESCH, 2010). Bei Frauen wird ein Kausalzusammenhang zwischen Arthritiden und einer Impfung gegen Röteln im Erwachsenenalter vermutet. So stellte das „Committee to Review the Adverse Consequences of Pertussis and Rubella Vaccines“ des amerikanischen Institute of Medicine fest, dass es schlüssige Beweise für einen Kausalzusammenhang zwischen dem Impfstamm RA 27/3 und chronischer Arthritis bei erwachsenen Frauen gibt (INSTITUTE OF MEDICINE, 1991). Auch das oberste Bundesverwaltungsgericht der USA schloss sich bei der Beurteilung von Klagen, die beim nationalen Programm zur Entschädigung von Impfschäden eingereicht wurden, mehrheitlich der Meinung an, dass chronische Arthropathien, die zwischen einer und sechs Wochen nach einer Impfung gegen Röteln auftreten, auf den Impfstoff zurückgeführt werden können (WEIBEL & BENOR, 1996). Epidemiologische Erhebungen zeigten, dass etwa 13 % immunologisch naiver adulter Frauen eine Polyarthrititis innerhalb von zwei bis vier Wochen nach einer

Impfung entwickelten; etwa 5 % zeigten eine chronische oder rekurrende Arthropathie, die länger als 18 Monate anhielt (TINGLE et al., 1986). Bei der Pathogenese könnten zirkulierende Immunkomplexe eine Rolle spielen (COYLE et al., 1982). Eine statistisch signifikante Assoziation zwischen der Konzentration zirkulierender Immunkomplexe und rötelnassoziierter Arthritis oder Arthralgie war jedoch nicht konstant nachweisbar (SINGH et al., 1986). Auch waren andere geblindete, z. T. placebokontrollierte, Kohortenstudien nicht in der Lage, einen Beweis für einen Kausalzusammenhang zwischen der Rötelnimpfung postpartaler Frauen und einer nachfolgenden Arthritis oder Arthralgie zu finden (SLATER et al., 1995; TINGLE et al., 1997). Aufgrund der widersprüchlichen Daten fällt eine abschließende Beurteilung schwer.

Bei Katzen wird eine febrile Polyarthritis, das sogenannte „limping-kitten-syndrome“ (PEDERSEN et al., 1983), mitunter auch nach Anwendung von Impfstoffen mit attenuiertem FCV beobachtet (DAWSON et al., 1993). Dieser Polyarthritis könnte ursächlich eine Immunkomplex-vermittelte Immunreaktion zugrunde liegen. Die Symptome treten häufig nach Erstimpfung im Alter von bis zu sechs Monaten auf und stehen in engem zeitlichem Zusammenhang mit der Impfung (bis zu einer Woche). Eine ältere Analyse von insgesamt 123 VAAE in Zusammenhang mit einer FCV-Impfung ergab, dass 80 % mit einer Lahmheit (ausschließlich oder in Verbindung mit anderen Symptomen einer FCV-Infektion) assoziiert waren. Allerdings wird davon ausgegangen, dass für die Immunantwort in den betroffenen Gelenken eher eine Konfektion mit FCV-Feldvirus und seltener das Impfvirus verantwortlich ist (DAWSON et al., 1993). In einem Experiment an zwölf SPF-Katzen wurde FCV-Antigen in synovialen Makrophagen aus insgesamt 14 Gelenken nachgewiesen. Drei der betroffenen Katzen waren zuvor mit FCV-Feldvirus (Stamm FCV-A4) intranasal infiziert worden und zwei der Katzen war sieben Tage zuvor lebendes FCV-Impfvirus (ähnlich dem viralen Stamm FCV-F9) subkutan injiziert worden. Mithilfe von Immunfluoreszenz gelang der Nachweis von Immunglobulin und Komplement in den Synovialmakrophagen. Dies führte die Autoren zu dem Schluss, dass FCV in Form von Immunkomplexen gebunden vorlag (BENNETT et al., 1989). In einer nachfolgenden Untersuchung wurden zwölf Katzen über intraartikuläre (jeweils zwei Tiere) oder Kontaktexposition (jeweils vier Tiere) mit zwei FCV-Stämmen, dem F65-Feldstamm oder einem Impfstamm, infiziert. Katzen, die dem Feldvirus ausgesetzt waren, entwickelten

mehrheitlich ausgeprägtere klinische Symptome als Katzen, die dem Impfvirus ausgesetzt waren; insbesondere Pyrexie, Lethargie, Anorexie und Lahmheit waren bei F65-exponierten Katzen stärker ausgebildet. Während der Feldstamm auch bei Kontaktexposition in drei von vier Fällen eine milde bis moderate Lahmheit auslöste, induzierte der Impfstamm lediglich nach intraartikulärer Injektion eine milde, transiente Lahmheit ohne feststellbaren Gelenkschmerz. Eine intraartikuläre Injektion des Feldvirus hatte jeweils eine hochgradige Lahmheit mit schmerzhaften Gelenkschwellungen und Bewegungsunlust zur Folge. Pathologische und histopathologische Untersuchungen zeigten Läsionen in einigen Gelenken, welche allerdings bei F65-exponierten Tieren sehr viel ausgeprägter waren. Bei allen Katzen, die intraartikulär mit Impfvirus infiziert worden waren, konnte FCV aus einem Gelenk isoliert werden (DAWSON et al., 1994).

Beim Hund sind verschiedene Formen einer immunmedierten Polyarthritiden (IMPA) bekannt (KOHN et al., 2003; TIZARD, 2018q). Immunkomplexen wird in der Progression eine hohe ursächliche Relevanz beigemessen. So können Immunkomplexe regelmäßig bei Tieren mit erosiver rheumatoider Arthritis (RA) und vielfach auch bei Osteoarthritis in Blut und Synovialflüssigkeit detektiert werden (TIZARD, 2018l). In Zusammenhang mit caniner RA wurden auch CDV-Antigen und -Antikörper aus betroffenen Gelenken nachgewiesen; dies war zugleich mit erhöhten Konzentrationen von Immunkomplexen, sowohl in der Synovialflüssigkeit als auch in der Zirkulation, korreliert (BELL et al., 1991; MAY et al., 1994). Beim Menschen wurde auch Parvovirus-B19 mit früher RA in Verbindung gebracht (COHEN et al., 1986). Somit ist denkbar, dass bestimmte replikationsfähige Antigene, wie CDV und CPV, in Impfstoffen mit der Entwicklung einer IMPA in Verbindung stehen könnten. Die meisten caninen Polyarthritiden werden jedoch als idiopathische Polyarthritiden Typ I bis IV klassifiziert. Obwohl diese nicht-erosiv sind und die Charakteristika einer Typ-III-Hypersensitivität erfüllen, bleibt der genaue Pathomechanismus meist unbekannt (TIZARD, 2018q). Berichte über postvakzinale Arthritiden bei Hunden sind vorwiegend auf Erkrankungen bestimmter Rassen beschränkt (KOHN et al., 2003). Die IMPA juveniler verwandter Akitas, eine idiopathische Polyarthritiden vom Typ I (TIZARD, 2018q), ähnelt in einigen klinischen Symptomen der juvenilen RA beim Menschen (DOUGHERTY et al., 1991), deren Auftreten u. a. in Zusammenhang mit Hepatitis-B-Impfungen diskutiert wird (SCHATTNER, 2005). Eine Fallserie



von mehreren Akitas mit juveniler IMPA (DOUGHERTY et al., 1991; DODDS, 1999) lässt sowohl auf eine genetische Komponente als auch auf eine mögliche Triggerung durch Impfung schließen. Betroffene Akitas entwickelten innerhalb der ersten drei Lebensmonate wiederkehrende Fieberepisoden, die von tiefen Schmerzen in verschiedenen Gelenken begleitet waren. Gelenkpunktionen und Röntgenuntersuchungen ergaben eine nicht-septische, nicht-erosive Arthritis. Einige Hunde litten auch unter einer begleitenden aseptischen Meningitis, und in der pathologischen Untersuchung von drei Hunden wurde eine glomeruläre Amyloidose sowie Vaskulitiden in mehreren Organen nachgewiesen. Nur in einem einzigen Fall lag ein niedriger positiver antinukleärer-Antikörper-Titer von 40 vor. Eine Glukokortikoidtherapie war, obwohl initial teilweise vielversprechend, langfristig ohne Erfolg. Alle Hunde verstarben innerhalb der ersten zwei Lebensjahre oder wurden wegen progressiver Erkrankung und Nierenversagen euthanasiert. Der genaue Pathomechanismus blieb unbekannt. Allerdings wurden Ähnlichkeiten zum autosomal-rezessiven hereditären Mittelmeerfieber des Menschen und dem familiären „Shar-Pei-Fieber“ vermutet. Letzteres geht ebenfalls mit wiederkehrenden Fieberschüben, Gelenkschwellungen und reaktiver systemischer Amyloidose durch Ablagerung von Serum-Amyloid-A einher (DIBARTOLA et al., 1990; MAY et al., 1992; RIVAS et al., 1993); in gelenknahen Hautbiopsien der vorrangig betroffenen Tarsalgelenke erkrankter Shar-Peis wurde histologisch eine Immunkomplex-Vaskulitis gefunden, die durch immunhistochemischen Nachweis von IgG und Komplement C3 in den Gefäßwänden gestützt wurde (TELLIER, 2001). Erste Symptome bei den Akitas zeigten sich innerhalb von nur drei bis 29 Tagen nach einer Impfung; dabei waren sowohl polyvalente MLV, aber auch inaktivierte Impfstoffe oder eine Kombination von beidem eingesetzt worden. Aufgrund der engen zeitlichen Assoziation wurde vermutet, dass die viralen Antigene im Impfstoff oder andere Impfstoffkomponenten die Induktion der immunmedierten Erkrankung getriggert haben könnten. Daraufhin wurden die Impfhistorien von weiteren 129 Welpen analysiert, die mit den Hunden in der Fallserie verwandt waren. 80 % dieser Welpen (104/129) hatten ebenfalls polyvalente MLV-Impfstoffe erhalten; davon entwickelten 10 % (10/104) z. T. schwere bis tödliche Nebenwirkungen. Sechs Welpen, die ausschließlich mit einem inaktivierten polyvalenten Impfstoff geimpft worden waren, zeigten keine Komplikationen; die restlichen 19 Welpen wurden initial mit Nosoden, also homöopathischen Aufbereitungen von

Krankheitsprodukten, geimpft und später mit einem inaktivierten CPV-Impfstoff; zwei Hunde erkrankten, einer davon verstarb (DODDS, 1999). Im Jahr 2003 wurde in einer orthopädischen Fachzeitschrift eine Fallserie aus der Kleintierklinik der Freien Universität Berlin veröffentlicht, die über einen Zeitraum von vier Jahren Daten von insgesamt 27 Hunden mit IMPA ausgewertet hatte. Alle Hunde hatten eine aufwendige diagnostische Aufarbeitung erhalten, einschließlich allgemeines Routinelabor, Röntgen- und Ultraschalldiagnostik, Analyse der Synovialflüssigkeit, Serumtitrierbestimmung von Rheumafaktoren und antinukleären Antikörpern, Testung auf relevante Infektionskrankheiten (z. B. Ehrlichiose), sowie in Einzelfällen verschiedene ergänzende Spezialuntersuchungen. Neun Hunde wurden mit idiopathischer Polyarthrit Typ I und 14 Hunde mit anderen Polyarthritformen diagnostiziert. Eine impfassoziierte Polyarthrit wurde bei vier Hunden (15 %) verschiedener Rassen vermutet. Die Tiere hatten ein Alter zwischen 1,3 und 2,4 Jahren, und die Impfung lag durchschnittlich elf Tage (drei bis 15 Tage) zurück, bevor Symptome einer akuten Lahmheit mit schmerzhaften Gelenkschwellungen einsetzten. In der Synovialflüssigkeit war eine erhöhte Zellzahl (4.000 bis 72.000/ $\mu$ l) mit einer hohen Konzentration neutrophiler Granulozyten (30 bis 90 %) nachweisbar. Alle Hunde sprachen innerhalb von ein bis zwei Tagen auf die Behandlung mit nichtsteroidalen Antiphlogistika und Doxzyklin an. Nur ein Hund entwickelte zwölf Tage nach einer Boosterimpfung erneut Symptome einer akuten Arthritis; bei drei anderen Hunden verlief eine Nachimpfung ohne Komplikationen (KOHN et al., 2003). Im Gegensatz dazu konnten CLEMENTS et al. in einer nachfolgenden Untersuchung, die Daten einer etwas größeren Gruppe von insgesamt 39 Hunden mit idiopathischer Polyarthrit Typ I aus drei universitären Überweisungskliniken eingeschlossen hatte, keinen solch deutlichen Zusammenhang zwischen dem Einsetzen von klinischen Symptomen und einer Impfung finden. Sie erklärten, dass eine mögliche Beteiligung einer Impfung bei der Entstehung einer caninen IMPA nicht klar zu erkennen sei (CLEMENTS et al., 2004).

Neben Arthritiden wird auch eine schmerzhaft metaphysäre Osteopathie bei jungen Hunden in kurzem zeitlichem Abstand zu einer Impfung beschrieben. Radiologische Veränderungen klassifizierten diese als hypertrophe Osteodystrophie (HOD) (MOORE & HOGENESCH, 2010; TIZARD, 2018i). Die Erkrankung ist v. a. bei schnellwachsenden Hunden großer bis sehr großer Rassen

bekannt. Epidemiologische Erhebungen zeigten eine Prädisposition etwa für Deutsche Doggen, Deutsche Schäferhunde, Irische Setter, und Weimaraner (LAFOND et al., 2002). Bei Weimaranern wurde der Erkrankung, speziell auch in Zusammenhang mit Impfungen, die größte Aufmerksamkeit geschenkt. Aufgrund zahlreicher Fallberichte und Kohortenuntersuchungen (GRØNDALEN, 1976; COUTO, 1988; ABELES et al., 1999; DODDS, 1999; MCMURRAY, 2001; HARRUS et al., 2002; FOALE et al., 2003; CRUMLISH et al., 2006; SAFRA et al., 2013) gilt eine familiäre (genetische) Grundlage als sehr wahrscheinlich. Man vermutet einen autosomal rezessiven Erbgang mit einer mittelstarken Heritabilität von bis zu 0,35 (MCMURRAY, 2001). Eine retrospektive Fallserie hatte die Krankenakten von 53 Weimaranerwelpen mit HOD ausgewertet; etwa die Hälfte der Hunde (28/53) hatte Wurfgeschwister, die ebenfalls betroffen waren. Zugleich war das Rückfallrisiko bei Hunden mit betroffenen Wurfgeschwistern höher als bei Hunden ohne betroffene Wurfgeschwister (SAFRA et al., 2013). Spezifische Gene oder Genmarker konnten bislang allerdings nicht identifiziert werden (MOORE & HOGENESCH, 2010). Da Allele der humanen Leukozyten-Antigene die Immunantwort auf Impfungen beim Menschen beeinflussen, wurden Allele des Hunde-Leukozyten-Antigen- (dog leukocyte antigen (DLA)) Haplotyps DLA-DQA1 innerhalb des Haupthistokompatibilitätskomplexes (major histocompatibility complex (MHC)) untersucht. Bei einer Gruppe von Weimaranern konnte jedoch keine Assoziation zu HOD nachgewiesen werden. Doch selbst die Autoren der Studien gaben zu bedenken, dass viele weitere Gene für Proteine des Immunsystems kodieren, die bei der Pathogenese der HOD relevant sein könnten (CRUMLISH et al., 2006). Obwohl die Erkrankung auch bei ungeimpften Hunden vorkommt, wird eine (multivalente) MLV-Impfung als Triggerfaktor angesehen und sowohl unter Wissenschaftlern wie auch in Züchterkreisen rege diskutiert (MCMURRAY, 2001). Typischerweise setzen die Symptome innerhalb von 30 Tagen (SAFRA et al., 2013), meist sogar innerhalb der ersten drei bis fünf Tage (MCMURRAY, 2001; FOALE et al., 2003), nach einer Impfung ein. Bisweilen wurde auch der Verdacht geäußert, dass speziell die CDV-Komponente problematisch sein könnte (GREENE & LEVY, 2012). Zwar ist denkbar, dass je nach Produkt verschiedene Antigene und andere Inhaltsstoffe im Impfstoff das Auftreten von HOD beeinflussen; auf Basis kontrollierter Studien gibt es hierfür aber keine Grundlage (CRUMLISH et al., 2006; MOORE & HOGENESCH, 2010). Zum Teil wurde dazu geraten, bei Weimaranerwelpen

ausschließlich auf Vakzinen mit inaktivierten Antigenen zurückzugreifen (TIZARD, 2018i). Und auch verschiedene Grundimmunisierungsprotokolle wurden hinsichtlich ihres Risikos zur Entwicklung einer HOD getestet. Dabei zeigte sich, dass eine fraktionierte Verabreichung von MLV-Antigenen von Vorteil sein könnte (HARRUS et al., 2002). Neben schmerzhaften Schwellungen an den Wachstumszonen langer Röhrenknochen und Lahmheit entwickelten betroffene Weimaraner häufig Fieber, Malaise, Leukozytose und Lymphadenopathie; manchmal waren auch weitere Organsysteme betroffen, z. B. Haut (tiefe Pyodermie), Gastrointestinaltrakt, Respirationstrakt, Urogenitaltrakt oder Nervensystem (sterile Meningitis) (ABELES et al., 1999; MCMURRAY, 2001; FOALE et al., 2003). Ursächlich hierfür wurde allerdings eher eine erhöhte Infektanfälligkeit in Folge einer Immunschwäche oder Immundysregulation und weniger eine multifokale entzündliche Erkrankung vermutet. Erkrankte Hunde hatten vielfach Serumimmunglobulinkonzentrationen (IgG, IgM und/oder IgA) unterhalb des Referenzbereichs (COUTO et al., 1989; FOALE et al., 2003); dabei waren v. a. die mittleren IgG-Konzentrationen signifikant niedriger als bei klinisch gesunden Weimaranern (FOALE et al., 2003). Zusätzlich ist bei Weimaranern mit rezidivierenden Infektionen eine gestörte Funktion der neutrophilen Granulozyten bekannt; jedoch wurden keine Unterschiede in der Lymphozytenblastogenese auf Mitogenstimulation, der Aktivität der natürlichen Killerzellen und der Produktion von Zytokinen, wie Interleukin-1 oder Interleukin-2 (IL-2), nachgewiesen (COUTO et al., 1989). Besonders dann, wenn die Symptome kurz nach einer Impfung auftreten, wird therapeutisch meist eine Behandlung mit Glukokortikoiden empfohlen (ABELES et al., 1999; DODDS, 1999, 2001; FOALE et al., 2003). Diese gilt einer Behandlung mit nichtsteroidalen Antiphlogistika im Allgemeinen als überlegen; eine Remission nach Glukokortikoidgabe setzte häufig schon innerhalb weniger Stunden ein (SAFRA et al., 2013). Aber auch Acetylsalicylsäure wurde schon erfolgreich bei postvakzinaler HOD eingesetzt (GILAD et al., 2002). Längere Follow-up-Daten sind nur eingeschränkt verfügbar. So berichteten FOALE et al., die die Krankengeschichte von 21 Hunden über einen Zeitraum von etwa zwei Jahren verfolgt hatten, dass sich elf Hunde (52 %) vollständig erholten, sechs Hunde (29 %) weiterhin klinische Symptome zeigten und vier Hunde (19 %) euthanasiert wurden oder verstarben (FOALE et al., 2003). In einer anderen Datenerhebung mit 53 Hunden erreichten 33 Hunde (62 %) das Erwachsenenalter; davon waren 28 Hunde (85 %) völlig gesund und fünf Hunde (15 %) zeigten immer

wieder Episoden von Fieber und Malaise (SAFRA et al., 2013). Nach Auffassung von MOORE und HOGENESCH erscheint ein Wiederaufflammen einer HOD durch den relativen Immunstimulus einer Impfung unwahrscheinlich, sobald die Wachstumsphase abgeschlossen und ein höheres Körpergewicht (geringer vaccine dose effect) erreicht ist. Dennoch können bei solchen Patienten besondere Vorsichtsmaßnahmen bei der Impfung, wie z. B. eine Restriktion simultan verabreichter Impfantigene, indiziert sein (MOORE & HOGENESCH, 2010) (siehe auch 2.3.1.1.).

Glomerulonephritiden können bei Hunden und Katzen sekundär zu verschiedenen viralen, rickettsialen oder parasitären Infektionserkrankungen auftreten (TIZARD, 2018l); mit einer Immunkomplexablagerung nach Impfungen wurden sie bisher aber nicht in Verbindung gebracht (MOORE & HOGENESCH, 2010; GREENE & LEVY, 2012). Jedoch ist beschrieben, dass eine Glomerulonephritis und Amyloidose experimentell durch wiederholte Injektion größerer Mengen Fremdanitgen im Rahmen einer Desensibilisierung ausgelöst werden konnten (GREENE & LEVY, 2012). Auch systemischer Lupus erythematodes, ulzerative Gingivostomatitis oder granulomatöse Meningoenzephalitis könnten durch wiederholte Impfungen aktiviert werden (GREENE & LEVY, 2012).

#### **2.3.1.4. Typ-IV-Hypersensitivitätsreaktionen**

Eine verzögerte Hypersensitivitätsreaktion vom Typ IV (delayed type hypersensitivity (DTH)) wird primär über eine zellmedierte zytotoxische Immunantwort vermittelt und nicht über eine Antikörperantwort auf ein spezifisches Antigen. Damit unterscheidet sie sich grundlegend von den drei anderen Hypersensitivitätsreaktionen und impliziert die Präsenz antigenspezifischer T-Lymphozyten speziell vom Th1-Typ (MOORE & HOGENESCH, 2010; DAY & SCHULTZ, 2014f). Bei Exposition zu einem sensibilisierenden Antigen werden Memory-Th1-Zellen gebildet; eine Reaktivierung dieser Zellen bei erneutem Antigenkontakt führt zur Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und Chemokine, v. a. Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), aber auch TNF- $\alpha$ , Interleukin-3 oder Granulozyten-Monozyten-Kolonie-stimulierender Faktor. Auf diese Weise werden Entzündungszellen (Makrophagen, CD4- und CD8-positive Lymphozyten und einige Granulozyten) rekrutiert, die weitere proinflammatorische Zytokine sezernieren und die Reaktion verstärken. DTH-Reaktionen werden typischerweise erst nach 24 bis 72 Stunden beobachtet; dies ist

das zweite wesentliche Charakteristikum (DAY & SCHULTZ, 2014f). Längerfristig können sich bei Hypersensitivitätsreaktionen vom Typ IV auch Granulome bilden, die hauptsächlich aus Makrophagen und Lymphozyten bestehen (MOORE & HOGENESCH, 2010). Große exsudative Granulome an der Injektionsstelle können etwa nach Anwendung von Impfstoffen beobachtet werden, die BCG als immunstimulatorisches Adjuvans enthalten. Bei frühen Tollwutvakzinen, die noch aus Nervengewebe von Säugetieren gewonnen wurden, sind postvakzinale Enzephalitiden beschrieben; diese wurden ebenfalls als allergische Reaktion im Sinne einer Typ-IV-Hypersensitivitätsreaktion klassifiziert (GREENE & LEVY, 2012).

#### **2.3.1.5. Unspezifische systemische Reaktionen**

Milde unspezifische systemische Reaktionen, wie eine transiente Pyrexie und Lethargie innerhalb der ersten Tage nach der Impfung, werden als normale medizinische Konsequenz der Impfung bewertet; sie können durch die Initiierung der Immunantwort und Zytokinproduktion sowie durch eine pyrogene Wirkung von Antigenen, Adjuvantien oder Endotoxinen verursacht sein (MARTINOD, 1997; POVEY & CARMAN, 1997g; MEYER, 2001; DAY, 2006; DAY & SCHULTZ, 2014m).

#### **2.3.1.6. Immunsuppression**

Ob und unter welchen Umständen eine klinisch relevante Immunsuppression durch eine Impfung hervorgerufen werden kann, ist noch nicht abschließend geklärt (HORZINEK et al., 1997a; MARTINOD, 1997; MEYER, 2001; DAY & SCHULTZ, 2014m). So gibt es einen Fallbericht von Katzenwelpen, bei denen es nach Anwendung einer hochtitrigen intranasalen FPV-MLV zu einer schweren systemischen Infektion durch *Salmonella typhimurium* gekommen war. Es wurde vermutet, allerdings nicht bewiesen, dass eine transiente Immunsuppression in Folge der Impfung eine Aktivierung des subklinischen Salmonellen-Carrier-Status begünstigt hatte (FOLEY et al., 1999).

Verschiedene experimentelle Studien untersuchten die Wirkung von Impfungen auf verschiedene immunologische Parameter von Hunden. Eine Routineimpfung bei 33 klinisch gesunden Deutschen Schäferhunden mit einem Kombinationsimpfstoff gegen CDV, CPV, CAV-2, Tollwut, Leptospirose und Zwingerhusten konnte eine Verlagerung des Gleichgewichts zwischen zellmediierter und humoraler Immunität

(Th1/Th2-Balance) bewirken. Im Detail wurde v. a. ein postvakzinaler Abfall der T-Zell-Antwort auf Mitogenstimulation durch Phytohämagglutinin (PHA), eine reduzierte Funktion der neutrophilen Granulozyten und eine geringere Konzentration von Neopterin, einem Botenstoff, der während der zellulären Immunreaktion von Makrophagen und dendritischen Zellen sezerniert wird, gefunden. Zugleich zeigte sich ein Anstieg der IgG-Konzentration und der hämolytischen Aktivität des Komplementsystems (STRASSER et al., 2003). Bestimmte Kombinationen viraler Impfantigene könnten im Zeitraum von fünf bis elf Tagen nach einer Impfung eine transiente Immunsuppression zur Folge haben, obwohl für die einzelnen Komponenten keine derartigen Effekte bekannt sind (TIZARD, 2018i). So schien in einer älteren Studie von PHILLIPS et al. die Kombination bestimmter caniner Antigene, namentlich CDV, Stamm Rockborn, mit CAV-1 oder CAV-2, die Lymphozytenzahl und deren Antwort auf eine Mitogenstimulation zu beeinträchtigen; wurde dagegen CDV, Stamm Snyder Hill, mit CAV-1 oder CAV-2 kombiniert, waren solche Effekte nicht evident (PHILLIPS et al., 1989). Unterschiede wurden aber auch zwischen individuellen Hunden beobachtet. MASTRO et al. entdeckten nach einer CPV-MLV-Impfung bei drei von acht Hunden einen signifikanten Abfall der Lymphozytenblastogenese; dieser war zwar nur von kurzer Dauer und ohne klinische Signifikanz, trat aber bei den einzelnen Hunden konstant nach jeder Impfung auf. Andere Hunde zeigten keinen Abfall der Lymphozytenblastogenese (MASTRO et al., 1986). Auch das Alter und der Immunstatus scheinen in diesem Zusammenhang von Bedeutung zu sein. MIYAMOTO et al. beobachteten am siebten Tag nach einer Impfung mit attenuiertem CDV und CAV-1 (in Kombination mit einem inaktivierten CPV-Impfstoff) bei Welpen wie auch adulten Hunden einen signifikanten Abfall der Leukozyten und Lymphozyten; zugleich zeigten Welpen, im Unterschied zu adulten Hunden, eine deutlich geringere DTH-Reaktion auf PHA. Hinsichtlich der Lymphozytenblastogenese gab es ebenfalls Unterschiede zwischen beiden Altersgruppen. Welpen reagierten auf die Impfung innerhalb von drei Tagen jeweils mit einem deutlichen Anstieg der Lymphozytenblastogenese; adulte Hunde, die bereits einen hohen Ausgangswert hatten, zeigten innerhalb von drei Tagen einen deutlichen Abfall, während adulte Hunde mit niedrigem Ausgangswert, analog zu den Welpen, einen Anstieg der Lymphozytenblastogenese entwickelten. Die Autoren leiteten aus den Ergebnissen ab, dass eine Impfung, abhängig vom Immunstatus des jeweiligen Impflings, eher immunmodulatorisch als

immunsuppressiv wirken könnte (MIYAMOTO et al., 1992). Eine andere Studie, die den Einfluss verschiedener Impfprotokolle auf die humorale und zellmedierte Immunität von Greyhound-Welpen untersucht hatte, konnte für ein „maximales“ Impfschema mit mehr Impfdosen in kürzerem zeitlichem Abstand (insgesamt 13 Impfungen zwischen der zweiten und 24. Lebenswoche) weder eine höhere Effektivität noch eine höhere Immunsuppression im Vergleich zu einem „minimalen“ Impfschema mit weniger Impfungen in größerem zeitlichem Abstand (insgesamt fünf Impfungen zwischen der fünften und 22. Lebenswoche) nachweisen (MCMILLEN et al., 1995).

Besonders kritisch wurde auch eine mögliche Immunsuppression durch die CPV-Komponente diskutiert. Nach Auffassung von MIYAMOTO et al. war dies wesentlich auf die Annahme zurückzuführen (MIYAMOTO et al., 1992), dass es bei einer Infektion mit virulentem CPV zur Depletion von Lymphozyten über die Zerstörung von lymphatischem Gewebe (Lymphknoten, Thymus, Tonsillen, Milz) kommen würde (MEUNIER et al., 1985b). Einige Studien hatten auch nach der Anwendung von CPV-MLV eine transiente Lymphopenie beobachtet (KESEL & NEIL, 1983; BRUNNER & SWANGO, 1985). Diese wurde unterschiedlich interpretiert. Manche Autoren werteten sie als Zeichen einer aktiven Immunreaktion auf die Impfung in Form einer Migration sensibilisierter Lymphozyten als Antwort auf die Virusreplikation (BRUNNER & SWANGO, 1985). Andere Autoren befürchteten eine wirkliche Immunsuppression durch CPV-MLV (KESEL & NEIL, 1983). So postulierten KRAKOWKA et al., dass eine Kombination von attenuiertem CPV mit anderen lebenden Impfviren, z. B. CDV, CAV-2 und Parainfluenza möglicherweise nicht sicher sei und eine impfinduzierte Erkrankung auslösen könnte. Diese These gründete sich auf der Beobachtung, dass einige Hunde (2/5), die drei Tage nach einer MLV-Impfung gegen CDV, CAV-2, Parainfluenza sowie *Leptospira*-Bakterin mit CPV oral inokuliert worden waren, eine impfinduzierte Staupe-Enzephalomyelitis entwickelten (KRAKOWKA et al., 1982). Andere Studien konnten dagegen keine transiente Lymphopenie nach CPV-MLV-Impfung nachweisen (PHILLIPS & SCHULTZ, 1987; HOGENESCH et al., 1999).

Obwohl CARMICHAEL den „Mythos einer Immunsuppression“ durch CPV-MLV (CARMICHAEL, 1997, 1999) als hinreichend widerlegt erachtete, fällt es anderen Autoren schwer, aus den genannten Studien generelle Rückschlüsse zu ziehen; zum



einen, da unterschiedliche Vakzinen verwendet wurden, zum anderen, da die klinische Signifikanz der im Labor nachgewiesenen geringeren Leukozytenzahlen und/oder reduzierter mitogeninduzierter Lymphozytenproliferation nicht vollständig klar ist (MEYER, 2001). Die Ergebnisse der Studien seien vorsichtig zu interpretieren; so könnten die kurzzeitigen Veränderungen der Immunparameter nach einer Impfung lediglich harmlose Unterschiede in der Immunzellwanderung zwischen Blut und lymphatischem Gewebe (Leukozytentracking) oder einen kurzzeitigen Shift zwischen humoraler und zellmediierter Immunität während der Ausbildung einer Immunantwort auf die Impfung widerspiegeln (ROTH, 1999; MEYER, 2001; STRASSER et al., 2003). Trotzdem könnten selbst transiente Veränderungen der Homöostase der Immunzellen einen Hinweis darauf geben, dass Impfungen einen gewissen Stressmoment für das Immunsystem bedeuten und daher nur bei gesunden Tieren durchgeführt werden sollten (STRASSER et al., 2003; ROTH & SPICKLER, 2010).

#### **2.3.1.7. Lokale Reaktionen an der Impfstelle**

Neben systemischen Reaktionen auf die Impfung können auch lokale Reaktionen, wie Schmerzhaftigkeit, Schwellungen, Rötungen, Alopezie oder palpable Knoten, an der Injektionsstelle auftreten (POVEY & CARMAN, 1997g; MEYER, 2001; GREENE & LEVY, 2012). Sie gelten bis zu einem gewissen Grad als „normale Toxizität“ im Rahmen der Immunstimulation durch eine Impfung (ROTH, 1999; TIZARD, 2018i), und sind primär als Entzündungsreaktion des Gewebes (DAY, 2006), v. a. bei der Verwendung adjuvanter Impfstoffe (KRETH, 2005; DAY et al., 2007b; GREENE & LEVY, 2012), zu verstehen. Auch Hypersensitivitätsreaktionen können einen lokalen Charakter haben; so sind z. B. fokale Typ-III- oder auch Typ-IV-Hypersensitivitätsreaktionen an der Injektionsstelle beschrieben (siehe auch 2.3.1.3.1., 2.3.1.3.2. und 2.3.1.4.). Schmerzen während oder nach der Impfung sind nicht ungewöhnlich (MEYER, 2001) und können durch die physikalischen Eigenschaften des Impfstoffs bei der Applikation (z. B. pH-Wert, Osmolalität, Temperatur), eine nervennahe Injektion oder die nachfolgende Entzündungsreaktion bedingt sein (POVEY & CARMAN, 1997g). Bei Katzen kann eine Impfung in die Hintergliedmaßen zu vorübergehender Lahmheit führen (MEYER, 2001). Je nach Größe des Tieres kann bereits das Volumen der Impfdosis unmittelbar nach der Injektion als „Schwellung“ wahrgenommen werden. Erytheme, Schwellungen und andere fokale

Irritationen/Läsionen treten hingegen typischerweise innerhalb von 30 Minuten (Typ-I-Hypersensitivität) bis zwei Wochen (Typ-III- oder Typ-IV-Hypersensitivität) nach einer Impfung auf (BROOKS, 1991; MARTINOD, 1997; POVEY & CARMAN, 1997g; ROTH, 1999; MEYER, 2001). Abszesse sind insgesamt selten und können entweder in Folge einer mikrobiellen Produktkontamination oder einer unsachgemäßen Anwendung entstehen (POVEY & CARMAN, 1997g). Granulombildung wird meist in Zusammenhang mit adjuvanten Impfstoffen, v. a. mit Depot-Adjuvanten, beobachtet; diese Veränderungen sind häufig steril und schmerzlos, und bilden sich meist innerhalb von zwei bis sechs Wochen von selbst zurück (BROOKS, 1991; POVEY & CARMAN, 1997g).

Weiter gibt es Fallberichte von fokaler nekrotisierender granulomatöser Pannikulitis bei Hunden und Katzen im Zeitraum von zwei Wochen bis zwei Monaten nach einer subkutanen Impfung. Sie stammen aus dem Jahr 1988/89 und beziehen sich auf die Anwendung von Tollwutimpfstoffen (sowohl Einzel- als auch Kombinationsimpfstoffe), die zu der damaligen Zeit in den USA auf dem Markt waren. Die Läsionen stellten sich als umschriebene, solide subkutane Massen mit zentraler Nekrose und peripherer Infiltration von Makrophagen, Lymphozyten, Plasmazellen und eosinophilen Granulozyten dar. In vier von zehn Präparaten war Fremdmaterial im makrophagozytären Zytoplasma zu erkennen. Dies wurde von den Pathologen mit Impfstoffkomponenten in Verbindung gebracht. Weiterführende immunologische Tests wurden allerdings nicht durchgeführt (HENDRICK & DUNAGAN, 1991). Entsprechend der „3-2-1-Regel“ sollten Umfangsvermehrungen, die drei Monate nach einer Impfung noch vorhanden sind, eine Größe von mehr als zwei Zentimeter aufweisen oder einen Monat nach Injektion an Größe zunehmen, mittels Feinnadelaspiration oder (vorzugsweise) inzisionaler Keil- oder Stanzbiopsie abgeklärt werden (VACCINE-ASSOCIATED FELINE SARCOMA TASK FORCE, 1999; SCHERK et al., 2013; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2019).

#### **2.3.1.8. Injektionsstellenassoziierte Tumoren**

Eine Entwicklung maligner mesenchymaler Tumoren an der Impfstelle wird in der Regel nur bei Katzen, nicht aber beim Hund, beobachtet. Hochgradig infiltrativ wachsende feline injektionsstellenassoziierte Fibrosarkome (feline injection-site sarcoma (FISS)) gelten als die bedeutendste VAAE bei Katzen (EUROPEAN

ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2019). Sie wurden initial v. a. mit der Anwendung adjuvanter Impfstoffe, wie Tollwut- und feline Leukämievirus- (FeLV) Vakzinen, in Verbindung gebracht (KASS et al., 1993; HENDRICK & BROOKS, 1994; COYNE et al., 1997). Um die Forschung gezielt voranzutreiben und Expertenwissen zu bündeln, wurde Mitte der 1990er Jahre in den USA eigens eine Arbeitsgruppe, die „Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force“, ins Leben gerufen (MORRISON & STARR, 2001). Heute, einige Jahre später, geht man davon aus, dass sämtliche geweber reizende und/oder schwer resorbierbare Injektionspräparate (z. B. Glukokortikoid- oder Penicillin-Depotpräparate (KASS et al., 2003; CUBLER et al., 2012; SRIVASTAV et al., 2012) lokale Irritationen und chronische Entzündungen induzieren können, welche als Trigger für eine lokale neoplastische Entartung von Bindegewebszellen agieren (EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2019). Die auf MACY und HENDRICK zurückgehende Hypothese, dass die Entwicklung von FISS mit der Induktion einer lokalen Entzündungsreaktion in Verbindung steht (MACY & HENDRICK, 1996), ist mittlerweile allgemein anerkannt (JÉLINEK, 2003; VACCINE-ASSOCIATED FELINE SARCOMA TASK FORCE, 2005; HENDRICK, 2011; WOODWARD, 2011; EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2019). Der genaue Mechanismus, wie es zum Übergang der chronischen Entzündung in eine lokale Tumormorphose kommt, ist jedoch nach wie vor unklar; es werden verschiedene Möglichkeiten, z. B. eine Überexpression bestimmter Wachstumsfaktoren (HENDRICK, 1998, 1999; NIETO et al., 2003) ebenso wie eine Überexpression der Cyclooxygenase-2 (SANTELICES IGLESIAS et al., 2018) oder DNA-Schäden und Mutationen durch freie Radikale und andere zellschädliche Metaboliten, wie hochreaktives Malondialdehyd, zusammen mit einer genetischen Prädisposition (O'BYRNE & DALGLEISH, 2001) und einer altersbedingten Abnahme der funktionalen Immunkompetenz (JÉLINEK, 2003) diskutiert (EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2019). Obwohl kein Impfstoff grundsätzlich risikofrei ist (SRIVASTAV et al., 2012), sollte nach Einschätzung von Experten MLV oder rekombinanten Vakzinen (z. B. rekombinante Canarypox-Vektor-Vakzinen) aufgrund der geringeren lokalen Entzündungsreaktion durch Adjuvansfreiheit (DAY et al., 2007b) der Vorzug vor adjuvanten Totimpfstoffen gegeben werden; sofern verfügbar, gelten mukosale Impfstoffe in Hinblick auf das FISS-Risiko als Impfstoffe der Wahl (EUROPEAN ADVISORY BOARD ON

CAT DISEASES ABCD, 2019; STIKO VET AM FLI, 2019). Zwischen Produkten verschiedener Hersteller innerhalb einer Antigenklasse konnten keine Unterschiede in Hinblick auf das FISS-Risiko festgestellt werden (KASS et al., 2003). Die überwiegende Zahl (ca. 87 %) von FISS sind Fibrosarkome (DODDY et al., 1996), die sich zwischen vier Monaten bis zu drei Jahren nach einer Injektion entwickeln können (SRIVASTAV et al., 2012). Obwohl Katzen aufgrund ihrer speziesspezifischen Gewebereaktion als einzigartig in der Prädisposition für injektionsstellenassoziierte Tumoren gelten (CARROLL et al., 2002), wurden vergleichbare Tumoren an der Impfstelle auch bei anderen Tierarten beschrieben, etwa bei Frettchen in Zusammenhang mit Tollwut- und Staupeimpfstoffen (MUNDAY et al., 2003), einem Pferd im Zusammenhang mit einem Influenzaimpfstoff (KANNEGIETER et al., 2010), einem Löwen im Zusammenhang mit einem Tollwut- und FeLV-Impfstoff (KINNE & TARELLO, 2007) und einem Zwergkaninchen im Zusammenhang mit einem Myxomatose-/Rabbit-Haemorrhagic-Disease-Impfstoff (PETTERINO et al., 2009). VASCELLARI et al. entdeckten ähnliche Tumoren auch nach einer Impfung von Hunden. In die Untersuchung wurden 15 canine Fibrosarkome, die von mutmaßlichen Impfstellen entfernt worden waren, und zehn Fibrosarkome von anderen Körperstellen eingeschlossen und histologisch und immunhistochemisch mit 20 FISS-Präparaten verglichen. Injektionsstellenassoziierte Fibrosarkome zeigten bei beiden Spezies lymphozytäre entzündliche Infiltrationen in der Tumorperipherie, während Fibrosarkome von anderen Körperstellen z. T. perivaskuläre entzündliche Infiltrationen innerhalb des Tumors aufwiesen. Zehn der vermutlich injektionsinduzierten Fibrosarkome von Hunden (und alle FISS) enthielten Zellen mit einem myofibroblastischen Immunphänotyp; die immunhistochemische Analyse ergab für alle Tumoren eine Expression von Vimentin. Aluminium-Ablagerungen wurden in acht der mutmaßlich injektionsstellenassoziierten Fibrosarkome von Hunden und in elf der feline Präparate gefunden. Auf Basis ihrer Entdeckungen konstatierten die Autoren abschließend *„distinct similarities between canine fibrosarcomas from presumed injection sites and feline post-vaccinal fibrosarcomas, suggesting the possibility of the development of post-injection sarcomas not only in cats, but also in dogs“* (VASCELLARI et al., 2003). Weiter berichteten JACOBS et al. von einer elfjährigen Labradorhündin, die drei Wochen nach einer Kombinationsimpfung gegen CDV, CAV-2, CPV, Parainfluenza, Leptospirose, Tollwut und Bordetellen

mit einem intraskapulären Unterhautknoten an der Impfstelle vorgestellt wurde. Die mikroskopische Untersuchung ergab ein high-grade Weichteilsarkom, das dem morphologischen Phänotyp eines injektionsstellenassoziierten Sarkoms entsprach. Immunhistochemisch waren die Tumorzellen positiv für Rezeptoren verschiedener Wachstumsfaktoren, z. B. für Rezeptoren des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors und des Thrombozyten-Wachstumsfaktors. Durch wiederholte aggressive chirurgische Intervention und dem Einsatz von Toceranib, einem Tyrosinkinase-Inhibitor, konnte eine Remission über einen Zeitraum von fast zwei Jahren erzielt werden (JACOBS et al., 2017). Dennoch ist abschließend festzuhalten, dass es sich hierbei um einzelne Fallberichte betroffener handelt. Bei Katzen, die insgesamt deutlich weniger VAAE entwickeln als Hunde, stellen FISS dagegen die mit Abstand am häufigsten dokumentierten und zugleich schwerwiegendsten Komplikationen nach einer Impfung dar (EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2019).

#### **2.3.1.9. Erkrankungen durch Kontamination und Residualvirulenz**

In seltenen Fällen können Kontaminationen, eine Residualvirulenz oder eine ungenügende Inaktivierung des Impfantigens zu einer schweren impfinduzierten Erkrankung führen. Auch ist durch genetische Rekombination attenuierter Impfstämme mit virulenten Feldstämmen eine Virulenzreversion möglich (MARTINOD, 1997; POVEY & CARMAN, 1997g; MEYER, 2001; DAY & SCHULTZ, 2014m) (siehe auch 2.1.3.1.).

#### **2.3.1.10. Impfversagen und Interferenz mit diagnostischen Tests**

Ein Impfversagen und die Interferenz mit diagnostischen Tests durch die Ausscheidung von Impferregern werden von manchen Autoren ebenfalls als unerwünschte Wirkungen bewertet (ROTH, 1999; MEYER, 2001; DAY, 2006). Beides soll nachfolgend näher erläutert werden (siehe auch 2.3.2. und 2.3.3.).

#### **2.3.2. Impfversagen**

Obwohl es keine verlässlichen Zahlen zur tatsächlichen Häufigkeit eines Impfversagens gegen CPV gibt, ist ein Auftreten, sowohl bei Welpen als auch bei adulten Hunden, vielfach in der Literatur dokumentiert (CARMICHAEL, 1983; THOMPSON et al., 1988; MEERS et al., 2007; DECARO et al., 2008; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; MITTAL et al., 2014; MIRANDA & THOMPSON, 2016a; ALTMAN et al., 2017). Der Analyse von „Verdachtsfällen auf mangelnde

erwartete Wirksamkeit“ wird ein zunehmender Stellenwert im Rahmen der Post-Market-Surveillance zugelassener Impfstoffe beigemessen (HOFFMANN et al., 2007). Dabei ist ein potentes Impfversagen speziell beim Jungtier von Bedeutung und wird vornehmlich als Folge einer unsachgemäßen Impfstoffanwendung oder einer mangelnden Immunkompetenz des individuellen Hundes angesehen (DAY, 2006, 2007b). So wurde in der Untersuchung von VALLI eine mutmaßlich fehlende Wirksamkeit der Impfung mit einer Rate von 0,228 pro 10.000 verkaufter Hundeimpfdosen (exklusive Tollwutvakzinen) als wahrscheinlich impfstoffassoziiert oder nicht klassifizierbar bewertet. Fast ebenso häufig, mit einer Rate von 0,203 pro 10.000 Impfdosen, konnte aber ein kausaler Zusammenhang mit dem Impfstoff mit großer Sicherheit ausgeschlossen werden (VALLI, 2015) (siehe auch Tabelle 9). Laut dem aktuellen Pharmakovigilanzreport des PEI beziehen sich Meldungen über eine unzureichende Wirksamkeit von Hundeimpfstoffen meist auf die CDV- oder CPV-Komponente. Allerdings ist auch der Bericht des PEI mit der Einschränkung versehen, dass eine korrekte Beurteilung eines Impfversagens wesentlich davon abhängt, ob die Immunisierung entsprechend den Vorgaben der Gebrauchsinformation durchgeführt wurde (HOFFMANN et al., 2016). In der Schweiz wurden im Überwachungsjahr 2018 für Hundeimpfstoffe lediglich zwei Fälle von mangelnder Wirksamkeit gemeldet, keiner davon in Zusammenhang mit einer CPV-Impfung (ROGGER et al., 2019). Dagegen wurden aus dem Vereinigten Königreich Großbritannien und Nordirland (United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland (UK)) in der Vergangenheit immer wieder Meldungen über eine vermutete mangelnde Wirksamkeit speziell von CPV-Impfstoffen gesammelt, wobei größtenteils die Hunderasse spezifiziert wurde, und immer wieder Rottweiler und Labrador Retriever sowie Staffordshire Bull Terrier und Jack Russell Terrier genannt wurden (Tabelle 12).

**Tabelle 12: Anzahl der beim UK Suspected Adverse Reaction Surveillance Scheme (SARSS) eingegangenen Meldungen über vermutete mangelnde Wirksamkeit von CPV-Impfstoffen (Daten entnommen aus den Pharmakovigilanzberichten DYER et al., 2007, 2008; DYER et al., 2009; DYER et al., 2010, 2011)**

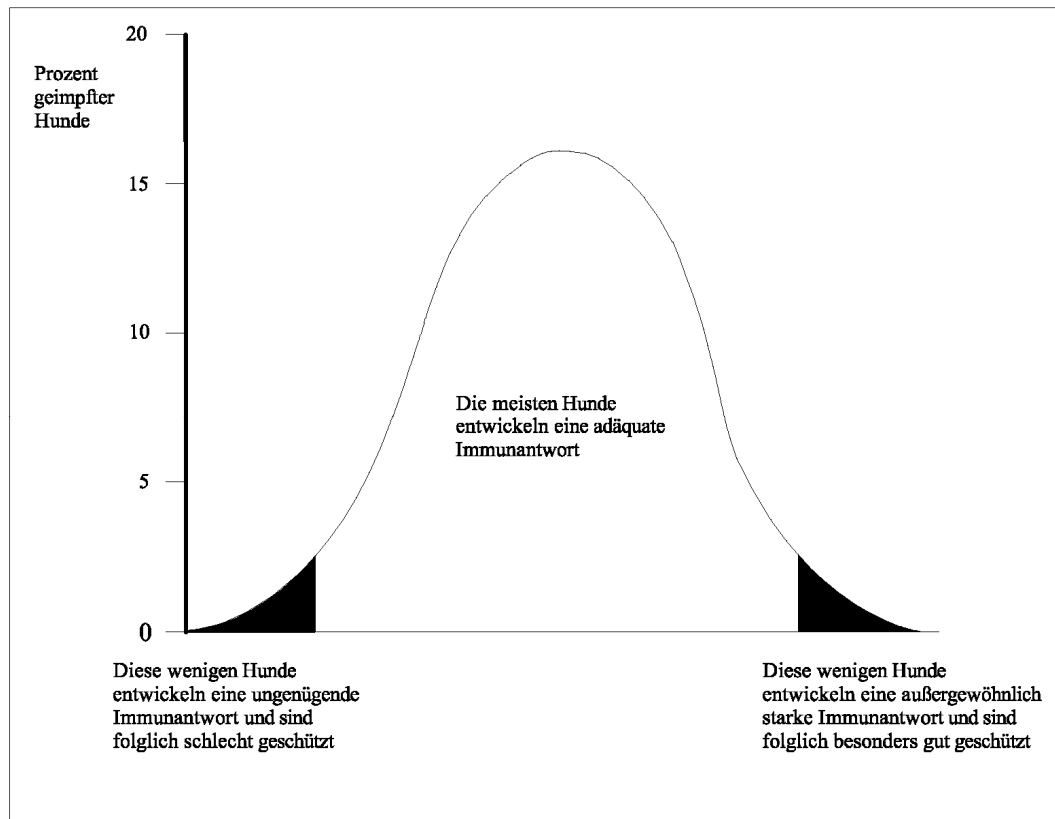
Jahr	2010	2009	2008	2007	2006	2005	2004	2003
Anzahl der Meldungen	90	59	61	33	64*	32	15	8

\*nur etwa 50 % der gemeldeten Fälle traten tatsächlich im Jahr 2006 auf, die restlichen Berichte betrafen Fälle zwischen 2001 und 2005.

Eine Renaissance von Erkrankungsfällen durch CPV in verschiedenen Regionen von UK hatte Ende des Jahres 2006 zu Diskussionen über die Wirksamkeit der CPV-Impfung in der Tierärzteschaft geführt (DYER & SPAGNUOLO-WEAVER, 2006; ILOTT, 2006; THOMPSON, 2006; DYER et al., 2007); zeitgleich war auch aus Nordamerika (PAUL et al., 2006) und Australien (NORRIS et al., 2006) ein vermehrtes Auftreten impfpräventabler Infektionskrankheiten bei Hunden gemeldet worden. Bei Impfungen in der Inkubationsphase der Erkrankung wird häufig fälschlicherweise der Verdacht auf ein Impfversagen geäußert (HOFFMANN et al., 2007). Berichte über klinisch manifeste CPV-Infektionen nach der Impfung lassen sich letztendlich aber nur korrekt beurteilen, wenn das Feldvirus eindeutig identifiziert und eine sachgemäße Anwendung des Impfstoffs gewährleistet wurde (ROTH, 1999; HOFFMANN et al., 2007). Die Situation im Jahr 2006 wurde hauptsächlich auf zwei Entwicklungen zurückgeführt: (1) dem Rückgang der optimalen Herdenimmunität in Zusammenhang mit der zunehmenden öffentlichen Aufmerksamkeit an VAAE und einer daraus resultierenden Impfskepsis, und (2) dem Trend zu „early-finish-Impfstoffen“, die aufgrund eines Abschlusses der Welpenimpfung bereits in der zehnten Lebenswoche (BERGMAN et al., 2006) als vorteilhaft für die Frühsozialisation von Welpen angesehen wurden (DAY, 2007b).

Wie die meisten Impfstoffe induzieren auch CPV-Vakzinen nur eine „relative“ Schutzwirkung (ROTH, 1999; MEYER, 2001; DAY, 2006; HOFFMANN et al., 2007; TIZARD, 2018i). Dabei kann die Immunreaktion eines einzelnen Hundes entsprechend der biologischen Gesetzmäßigkeit der Normalverteilung innerhalb der Population unterschiedlich stark ausgeprägt sein (Abbildung 2).

Zulassungsbehörden der EU fordern im Infektionsversuch eine Protektion von 80 % vorher immunologisch naiver Impflinge; gleichzeitig müssen 80 % der ungeimpften Kontrolltiere eine klinische Erkrankung entwickeln (DAY, 2006; TIZARD, 2018i). Damit kann ein gesteigerter Infektionsdruck, etwa durch eine hohe Tierdichte, eine geringe Impfquote oder ungewöhnlich virulente Erregerstämme (ROTH & SPICKLER, 2010), die Immunität bei etwa 20 bis 40 % der Tiere „durchbrechen“. Zusätzlich kann die biologische Varianz durch genetische Low- oder Non-Responder, die nur ungenügend bis gar nicht auf eine Impfung reagieren, die Herdenimmunität maßgeblich verringern (GREENE & LEVY, 2012).



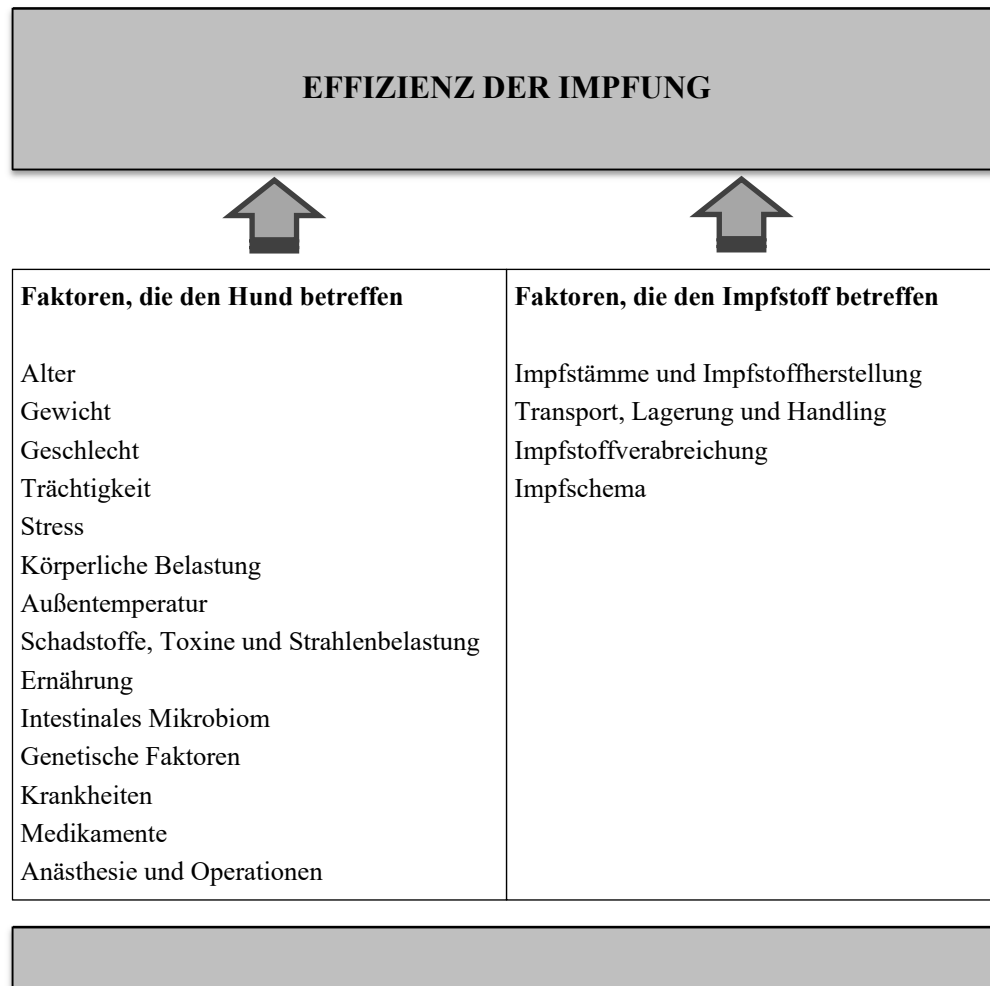
**Abbildung 2: Normalverteilung der Immunantworten innerhalb einer Population geimpfter Tiere (in Anlehnung an TIZARD, 2018i)**

Für einen einzelnen Hund, der entsprechend den Empfehlungen in den Impfleitlinien korrekt mit einer CPV-MLV geimpft wurde, wird eine Schutzwirkung von mindestens 98 % postuliert (DAY et al., 2016). Dabei kann im individuellen Anwendungsfall eine Vielzahl an Ursachen für eine verminderte Wirksamkeit oder auch ein komplettes Versagen der Impfung in Frage kommen (Abbildung 3).

Interferenzen mit der Impfung stellen meist die Folge von komplexen und multifaktoriellen Interaktionen dar und sind, da sie keinem charakteristischen Schema folgen, oft nur schwer vorhersehbar (VIDOR, 2007b). Ob ein individueller Hund trotz einer Impfung eine klinische Erkrankung entwickelt, wird bestimmt von der Balance zwischen dem Level der Immunität zum Zeitpunkt des Challenge und der Dosis und Virulenz des Pathogens, mit dem er konfrontiert wird (ROTH & SPICKLER, 2010). Dabei ist die Ursache für ein Impfversagen seltener in den Produkten selbst zu suchen, die unter strenger Maßgabe produziert werden und deren Immunogenität und Kreuzprotektivität gegenüber zirkulierenden Feldstämmen als adäquat gilt; vielmehr sind sie in den meisten Fällen in



Zusammenhang mit einer unsachgemäßen Anwendung entgegen der Expertenempfehlungen zu sehen (z. B. Impfung kranker, schlecht genährter oder zu junger Tiere) oder, weitaus seltener, ein intrinsisches Phänomen im individuellen Tier, das zu einer mangelhaften Immunantwort führt (DAY, 2007b).



**Abbildung 3: Faktoren, die den Impferfolg beeinflussen können (eigene Darstellung)**

### 2.3.2.1. Faktoren, die den Hund betreffen

Ein adäquates Ansprechen auf die Impfung setzt immer ein intaktes Immunsystem (BERTOLIZIO et al., 2017) und eine ausreichende Zeit zur Ausbildung einer protektiven Immunität (ROTH, 1999; DECARO et al., 2007b; GREENE & LEVY, 2012; SYKES, 2014a) voraus. Die Immunkompetenz eines individuellen Hundes kann durch verschiedene intrinsische Faktoren beeinträchtigt werden. Aber auch Faktoren, die von außen auf einen Hund einwirken, können die Immunantwort auf

eine Impfung beeinflussen (POVEY & CARMAN, 1997f). Solche Einflussfaktoren schließen eine Vielzahl an physischen, psychischen, chemischen oder auch infektiösen Ursachen mit ein (MUNEER et al., 1988), die die Homöostase stören und zu einer Immunsuppression führen. Diese Vorgänge sind hochkomplex und können nicht zuletzt durch weitere Variablen im Pathogen, im Impfstoff oder auch in der Anwendung des Impfstoffs beeinflusst werden. Um Professor Niels C. Pederson zu zitieren: „*The immune system does not operate in a vacuum but is influenced at many points and in subtle ways by environmental, host and pathogen-related factors [...]*“ (SCHERK, 2008). Was für ein Tier in einer bestimmten Situation zu einer Immunsuppression führt, kann durch eine Modifikation, z. B. in der Genetik, in einer anderen Situation keine Beeinträchtigung der Immunantwort zur Folge haben. In diesem Zusammenhang wird auch der Bedeutung von Stress eine zunehmende Beachtung beigemessen. Dabei scheinen verschiedene Mechanismen, wie das autonome Nervensystem, die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse und extraadrenale Signaltransduktionswege, einschließlich Neuropeptiden und Neurotransmittern, und auch neuroimmunologische Mediatoren, an der stressinduzierten Modulation des Immunsystems beteiligt zu sein (DOHMS & METZ, 1991). Als bekannte Stressoren in der Kleintiermedizin gelten z. B. Trächtigkeit, Geburt und Laktation, ein vorzeitiges oder schnelles Absetzen, Schlafmangel, physikalische Einflüsse, wie extreme Temperaturen oder Feuchtigkeit, exzessives Handling, körperliche Anstrengung, Trauma, Krankheit und sozialer Stress durch hohe Tierdichte oder Vergesellschaftung (SCHERK, 2008).

Tritt eine Beeinträchtigung des Immunsystems zum Zeitpunkt der Impfung auf, kann unter Umständen keine angemessene Immunantwort ausgebildet werden; tritt sie zu einem späteren Zeitpunkt auf, kann es trotz eines ursprünglich guten Ansprechens auf Impfung zu einer Erkrankung kommen (ROTH, 1999; ROTH & SPICKLER, 2010). Dabei kann eine reduzierte Effektivität der Immunantwort verschiedene Formen annehmen, die sich sowohl im Grad der Ausprägung als auch in der Dauer und Richtung unterscheiden können. Das Spektrum reicht von einer Immuntoleranz (der selektiven Hemmung der Immunantwort gegenüber einem bestimmten Antigen) oder einer Immunsuppression (einer verringerten Immunantwort gegenüber allen Fremdanthigenen) über eine Immundepression (dem Fehler, eine Immunkompetenz auszubilden oder der Reduktion einer bereits

entwickelten Immunkompetenz) bis hin zu einer Immunablation (der vollständigen oder permanenten Ausschaltung der Immunantwort) (MUNEER et al., 1988).

#### **2.3.2.1.1. Alter**

Die Entwicklung des Immunsystems und das Alter haben einen Einfluss auf die Immunantwort. Mit zunehmendem Alter kommt es beim Menschen wie auch beim Tier zu vielfältigen Veränderungen in der Immunfunktion, deren zugrundeliegenden Mechanismen noch nicht vollständig verstanden werden, die aber wahrscheinlich multifaktoriell sind und nicht zuletzt durch die Umwelt und das Verhalten beeinflusst werden (BURNS, 2004). So war beispielsweise die Lymphozytenantwort auf Mitogenstimulation durch PHA bei Welpen bis zur vierten Lebenswoche sehr viel niedriger, als wenn diese ein Alter von sechs bis zwölf Wochen erreichten. Allerdings war bereits ab dem sechsten Lebensmonat ein Rückgang der Lymphozytenstimulierbarkeit zu beobachten, der signifikant mit dem Alter der Hunde assoziiert war (GERBER & BROWN, 1974).

Der Effekt des Alterns auf die Immunantwort von Hunden auf eine Impfung ist bis heute nicht abschließend geklärt (HOGENESCH et al., 2004; GREENE & LEVY, 2012; STIKO VET AM FLI, 2017b). Es wird postuliert, dass die Immunoseneszenz, eine physiologische altersbedingte Abnahme der funktionalen Immunkompetenz (PASTORET, 2007; HOGENESCH & THOMPSON, 2010; SCHULTZ et al., 2010; DAY & SCHULTZ, 2014l), die Inzidenz und Schwere von Infektionskrankheiten und immunmedierten Erkrankungen erhöhen, wie auch die Wirksamkeit von Impfungen beeinträchtigen könnte (DWIVEDI & BURNS, 1984; GINALDI et al., 2001; DALL'ARA, 2003; PLOWDEN et al., 2004; THIRY & HORZINEK, 2007; KUMAR & BURNS, 2008; HOGENESCH & THOMPSON, 2010; DEWITT & LUEBKE, 2018). Jedoch erlaubt die aktuelle Studienlage keine eindeutige Bewertung der tatsächlichen Signifikanz des Alterns auf den Impferfolg bei Hunden. Daten aus der Humanmedizin kommen zu dem Schluss, dass auch extrinsische Stressoren entscheidenden Einfluss auf die Effektivität einer Impfung im fortgeschrittenen Alter haben (DEWITT & LUEBKE, 2018). Altern gilt als komplexer biologischer Prozess, der zu einem progressiven Verlust der Fähigkeit führt, die Homöostase gegenüber physiologischen intrinsischen wie auch extrinsischen Stressoren aufrechtzuerhalten (GOLDSTON & HOSKINS, 1995). HOGENESCH et al. fanden trotz deutlicher Veränderungen verschiedener immunologischer Parameter (siehe unten) vergleichbare postvakzinale

Antikörpertiter gegen Tollwut, CDV und CPV bei jungen und alten Hunden; dabei hatten ältere Hunde sogar bereits höhere prävakzinale Tollwutantikörpertiter (HOGENESCH et al., 2004). Vieles deutet darauf hin, dass Alterungsprozesse v. a. die primäre Immunantwort auf eine Erstimpfung gegen ein neues Pathogen beeinträchtigen, wohingegen die Fähigkeit zu einer anamnестischen Immunantwort auf ein bekanntes Antigen erhalten bleibt (GINALDI et al., 2001; DALL'ARA, 2003; HOGENESCH & THOMPSON, 2010; DAY & SCHULTZ, 2014). Dabei scheint die Immunoseneszenz eher mit einem Abfall der zellulären Funktionen als mit einem wirklichen Zellverlust assoziiert zu sein. Allerdings ist auch bekannt, dass eine Abnahme der naiven T-Zellen die Immunreaktion auf neue Antigene, einschließlich Impfstoffe, im fortgeschrittenen Alter verringert (DEWITT & LUEBKE, 2018). Aus diesem Grund rät auch die StIKo Vet, dass eine Grundimmunisierung bei geriatrischen Hunden, auch bei Verwendung von MLV, stets zwei Impfungen im Abstand von drei bis vier Wochen umfassen sollte (STIKO VET AM FLI, 2017b). MANSFIELD et al. berichteten, dass die Fähigkeit von Hunden und Katzen, einen adäquaten Antikörpertiter auf eine Tollwutimpfung auszubilden mit zunehmendem Alter kontinuierlich abnimmt (MANSFIELD et al., 2004). Auch KENNEDY et al. detektierten nach Tollwutimpfung bei Hunden über sieben Jahren niedrigere Titer als bei jüngeren Hunden bis zu sieben Jahren, häufig auch unterhalb des Grenzwertes von 0,5 Internationale Einheiten (IE)/ml, der gemäß dem UK Pet Travel Scheme als minimaler postvakzinaler Antikörpertiter definiert ist (BURR & SNODGRASS, 2002; FOOKS et al., 2002). Allerdings entwickelten auch junge Hunde unter einem Jahr eine niedrigere Antikörperantwort im Vergleich zu adulten Hunden (KENNEDY et al., 2007). Analysen von verschiedenen immunologischen Biomarkern zeigten, dass Alterungsprozesse bei Hunden vornehmlich auf die zellmedierten Immunfunktionen einwirken, wohingegen die Fähigkeit zur Ausbildung einer humoralen Immunantwort weitestgehend gewahrt bleibt (DAY, 2010). Insbesondere eine Verringerung der proliferativen Aktivität peripherer Lymphozyten auf die Stimulation durch Mitogene, z. B. PHA, Concanavalin A (Con A), Pokeweed-Mitogen (PWM) oder Schaeferythrozyten (sheep red blood cells (SRBC)), ist bei älteren Hunden belegt (GERBER & BROWN, 1974; DAVILA et al., 1992; GREELEY et al., 1996; KEARNS et al., 1999; STRASSER et al., 2000; GREELEY et al., 2001; MASSIMINO et al., 2003; HOGENESCH et al., 2004; GREELEY et al., 2006; LAWLER et al., 2008). Zudem gibt es neben einem Abfall der absoluten

Leukozytenzahl deutliche altersabhängige Veränderungen in der Zusammensetzung der T-Zell-Subpopulationen. So zeigt die Immunphänotypisierung der peripheren Blut-Lymphozyten bei älteren Hunden regelmäßig eine reduzierte Zahl an CD4-positiven T-Helferzellen (HEATON et al., 2002; MASSIMINO et al., 2003; HOGENESCH et al., 2004; BLOUNT et al., 2005; WATABE et al., 2011) in Verbindung mit einer relativen Imbalance in der Th1/Th2-Wichtung zugunsten von Th1 (HORIUCHI et al., 2007) sowie eine Erhöhung der CD8-positiven zytotoxischen T-Lymphozyten (FALDYNA et al., 2001; HEATON et al., 2002; HOGENESCH et al., 2004; BLOUNT et al., 2005; WATABE et al., 2011), was sich in einer Reduktion des CD4/CD8-Quotients (FALDYNA et al., 2001; HEATON et al., 2002; HOGENESCH et al., 2004; BLOUNT et al., 2005; WATABE et al., 2011) widerspiegelt. Auch ein Abfall der CD21-positiven B-Lymphozyten ist beschrieben (WATABE et al., 2011). In Anlehnung an Untersuchungen an Menschen (DE PAOLI et al., 1988; UTSUYAMA et al., 1992) und Mäusen (MILLER, 1997) wird ein zusätzlicher altersabhängiger Shift der naiven T-Lymphozyten zu weniger responsiven T-Effektor- und T-Gedächtniszellen vermutet (HOGENESCH et al., 2004; DAY & SCHULTZ, 2014l). Diese Umkehr hat auch Veränderungen im Zytokinmilieu zur Folge, etwa eine reduzierte Ausschüttung von IL-2, das durch autokrine Stimulation v. a. für die zellmedierte Immunantwort durch Th1-Zellen essentiell ist (DAY & SCHULTZ, 2014c). Niedrigere Serumkonzentrationen von IL-2 sind auch bei älteren Hunden beschrieben (STRASSER et al., 2000); z. T. wird zusätzlich auch eine geringere Expression von IL-2-Rezeptoren berichtet (DALL'ARA, 2003). Weiter können altersabhängige Auswirkungen auf die Aktivität der natürlichen Killerzellen (DALL'ARA, 2003) und die Funktionen von Makrophagen (PLOWDEN et al., 2004) zur Dysfunktion der Immunantwort im Alter beitragen. Ein signifikanter altersabhängiger Rückgang in der phagozytotischen Kapazität des MPS wird jedoch nicht in allen Untersuchungen nachgewiesen (GREELEY et al., 2001). Im Gegensatz zu den tiefen Veränderungen der T-Zell-Immunität, bleiben die Konzentrationen von Immunglobulinen weitgehend stabil; z. T. werden bei älteren Hunden sogar höhere Werte bei einzelnen Immunglobulinklassen, wie IgA oder IgM, gemessen (STRASSER et al., 2000; HOGENESCH et al., 2004; BLOUNT et al., 2005; ALEXANDER et al., 2018). Wenngleich die B-Lymphozyten von altersbedingten Veränderungen prinzipiell weniger schnell und weniger stark betroffen scheinen, wird eine gewisse altersbedingte Abnahme der

humoralen Immunantwort dennoch als wahrscheinlich angesehen (DALL'ARA, 2003). Dies betrifft v. a. die Antikörperproduktion von T-Zell-abhängigen Antigenen und wird primär auf die beeinträchtigte Funktionalität der T-Helferzellen zurückgeführt, deren Kooperation für die Umwandlung der B-Zellen in antikörpersezernierende Plasmazellen essentiell ist (BANKS, 1981; HOMODELARCHE, 1990).

Auch die vermehrte Ausschüttung proinflammatorischer Botenstoffe und die Zunahme oxidativer Schäden gelten als zentrale Aspekte des menschlichen Alterns und sind direkt mit einer chronischen subklinischen Entzündung verbunden (BAUER & FUENTE MDE, 2016; ALEXANDER et al., 2018); dies hat auch den Begriff des Entzündungsalters, dem sogenannten Inflammaging, geprägt (DE MARTINIS et al., 2005; FRANCESCHI et al., 2007; GIUNTA, 2008). Um zu untersuchen, ob ähnliche Veränderungen auch bei Hunden auftreten, wurden verschiedene Marker für Entzündung und oxidativen Stress bei 80 Labrador Retrievern vom Erwachsenenalter bis zum Lebensende überwacht. Dabei war mit zunehmendem Alter ein signifikanter Anstieg der Serumspiegel von IgM und 8-Hydroxy-2-Desoxyguanosin zu verzeichnen, während die Konzentrationen von IgG und C-reaktivem Protein unverändert blieben. Die Basalspiegel des Hitzeschockproteins 70 fielen mit zunehmendem Alter stetig ab; unter Ausschluss der Daten aus dem letzten Lebensjahr war zudem eine reduzierte Kompensation auf Hitzebelastung evident (ALEXANDER et al., 2018). Eine andere Studie konnte eine signifikante altersabhängige Erhöhung des Basalkortisolspiegels belegen (GOY-THOLLOT et al., 2007). Zugleich schien die Responsivität der Leukozyten gegenüber Glukokortikoiden im Alter zurückzugehen (PEREIRA et al., 2003). Insgesamt deuten die Ergebnisse dieser Studien darauf hin, dass alternde Hunde Veränderungen durchlaufen, die mit dem menschlichen Inflammaging vergleichbar sind (ALEXANDER et al., 2018).

#### **2.3.2.1.2. Gewicht**

Bisweilen ist bei Hunden auch ein Zusammenhang zwischen dem Körpergewicht und der Stärke der humoralen Immunantwort auf eine Impfung beschrieben (DAY & SCHULTZ, 2014m). So wurden nach Tollwutimpfung bei einem signifikant höheren Anteil an Hunden höherer Gewichtsklassen Antikörper unterhalb des Grenzwertes von 0,5 IE/ml nach dem UK Pet Travel Scheme (BURR & SNODGRASS, 2002; FOOKS et al., 2002) sowie insgesamt niedrigere mediane

postvakzinale Titer nachgewiesen. In Anlehnung an Erkenntnisse in Zusammenhang mit der Hepatitis-B-Impfung beim Menschen (SHAW et al., 1989; ELLIS, 1993; KEATING & NOBLE, 2003) wurde von den Autoren der Studie als wahrscheinlichste Erklärung angeführt, dass größere Hunde mehr subkutanes Fettgewebe an den gängigen Injektionsstellen aufweisen, was eine Ablagerung und Sequestration der enthaltenen Impfantigene zur Folge haben kann (KENNEDY et al., 2007). Auch in einer japanischen Studie hatten kleinere Hunde deutlich höhere mittlere Antikörpertiter nach der Impfung gegen CPV und CDV als Hunde höherer Gewichtsklassen; die Antikörperantwort auf die Impfung wurde jedoch in allen Gewichtsklassen als ausreichend eingestuft (TAGUCHI et al., 2012b). Aufgrund der hohen Varianz im Körpergewicht von Hunden wird von manchen Autoren auch die Entwicklung unterschiedlicher Impfdosen für kleine und große Hunde angeregt (DODDS, 2002; TAGUCHI et al., 2012b).

#### **2.3.2.1.3. Geschlecht**

Einige Studien deuten darauf hin, dass auch Geschlecht und Reproduktionsstatus die Immunantwort auf eine Impfung beeinflussen können (ROTH & SPICKLER, 2010). So hatten unkastrierte Tiere in verschiedenen Untersuchungen ein höheres Risiko, nur ungenügend auf eine Impfung anzusprechen. In einer Studie von KENNEDY et al. hatte das Geschlecht selbst keinen Einfluss auf den Anteil von Hunden, die Antikörper oberhalb des Grenzwertes von 0,5 IE/ml erreichten, oder die Titerhöhe der Hunde nach einer Tollwutimpfung. Allerdings entwickelten kastrierte Hunde nach Impfung um 22 % höhere Titer als unkastrierte Tiere (KENNEDY et al., 2007). In einer weiteren Studie, die die Einflussfaktoren auf die Antikörperentwicklung nach Tollwutimpfung bei Hunden und Katzen analysierte, hatten intakte Katzen (aber nicht Hunde) signifikant häufiger keine Antikörper oberhalb des kritischen Grenzwertes; bei intakten Katern war dieser Effekt mit einer Odds Ratio von 3,2 (95%iges Konfidenzintervall 1,4 bis 7,4) stärker ausgeprägt als bei Kätzinnen (MANSFIELD et al., 2004).

Dieses Phänomen wird u. a. auf den immunmodulatorischen Effekt der Steroidhormone aus den Gonaden zurückgeführt (SCHUURS & VERHEUL, 1990). So ist ein Geschlechtsdimorphismus innerhalb des Immunsystems beschrieben. Weibliche Tiere weisen unter dem Einfluss von Östrogen meist höhere Immunglobulinkonzentrationen auf und bilden eine stärkere humorale Immunantwort auf Antigene (GAILLARD & SPINEDI, 1998; TANRIVERDI et

al., 2003). Androgene werden dagegen eher mit einem suppressiven Effekt auf die Immunantwort assoziiert (TANRIVERDI et al., 2003; ARREDOUANI, 2014). Eine Kastration kann diese Hemmwirkung aufheben und eine aktivere Immunantwort fördern. RIFÉ et al. untersuchten die Auswirkungen von Testosteron auf die Immunantwort gegen verschiedene Antigene bei Mäusen. Kastrierte männliche Mäuse wiesen etwa doppelt so viele T-Lymphozyten auf und sprachen besser auf die Stimulation durch T-Zell-abhängige Antigene an. Die Autoren vermuteten, dass Testosteron das Immunsystem v. a. über eine Steigerung der immunsuppressiven Aktivität reguliert (RIFÉ et al., 1990). Bei Hühnern kann eine Kaponisierung die Androgenkonzentration im Blut senken und das Bursagewicht sowie die humorale Immunantwort auf bestimmte Antigene, z. B. das Newcastle-Disease-Virus, steigern. Die Effekte konnten durch eine Implantation exogener Androgene wieder aufgehoben werden (CHEN et al., 2009; CHEN et al., 2010). Dagegen waren physiologische Testosteronspiegel essentiell für die Ausbildung einer adäquaten zellmedierten Immunität bei unreifen männlichen Hühnern (MASHALY, 1984).

Obwohl die genauen Mechanismen noch nicht vollumfänglich bekannt sind, weiß man, dass Sexualhormone nicht nur auf den Thymus, sondern auch auf andere lymphatische Organe und Immunzellen, wie T- und B-Lymphozyten, natürliche Killerzellen und Makrophagen, wirken; unter den Lymphozyten scheinen regulatorische T-Zellen am sensitivsten für Sexualhormone zu sein (AHMED et al., 1985). Für Androgene wurde eine Steigerung der Aktivität der regulatorischen T-Lymphozyten (ehemals „Suppressor-T-Zellen“) nachgewiesen (TANRIVERDI et al., 2003). Untersuchungen aus der Humanmedizin zeigten, dass Sexualhormone auch die Produktion von Zytokinen modulieren, was ebenfalls zu geschlechtsspezifischen Unterschieden in der Immunantwort beitragen kann (VERTHELYI & KLINMAN, 2000). Auch bei Mäusen wurden geschlechterspezifische Unterschiede in der T-Zell-Aktivierung beschrieben. Dabei beeinflussten die Hormone aus den Gonaden die Zytokinsekretion der antigenpräsentierenden Zellen während der T-Zell-Aktivierung dahingehend, dass weibliche (und männliche kastrierte) Tiere bevorzugt Th1-Immunantworten (vermittelt über Interleukin-12) ausbildeten, während männliche intakte Tiere eher Th2-Immunantwort (vermittelt über Interleukin-10 (IL-10)) induzierten. Dies machte die weiblichen Tiere in der Studie anfälliger für die Induktion einer



allergischen Enzephalomyelitis (WILCOXEN et al., 2000). Ähnliche geschlechterspezifische Unterschiede in der Th1/Th2-Wichtung von Immunantworten wurden auch bei Schweinen vermutet (DE GROOT et al., 2001).

Die Effekte von Sexualhormonen auf das Immunsystem können aber variabel sein, und die Modulation von Immunantworten kann uneinheitlich ausfallen. Die Gründe hierfür sind vielfältig, z. B. abhängig von der Konzentration und Metabolisierung der Sexualhormone, dem spezifischen Antigen und weiteren extrinsischen wie intrinsischen Einflüssen (AHMED & TALAL, 1990). Auch wird eine geschlechtsspezifische Varianz in der Antwort auf Stress diskutiert (siehe auch 2.3.2.1.5.). Diese wird v. a. auf den Einfluss von Sexualhormonen auf die Reaktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse zurückgeführt; während Testosteron eher ein Hemmeffekt attribuiert wird, könnte Östrogen deren Ansprechbarkeit sogar erhöhen (HANDA et al., 1994a; GAILLARD & SPINEDI, 1998). In diesem Zusammenhang wird auch der Verteilung und Regulation von Androgen- und Östrogenrezeptoren im ZNS eine Bedeutung in der geschlechterspezifischen Modulation von Stressantworten zugedacht (HANDA et al., 1994a). Weibliche Mäuse hatten höhere basale Glukokortikoidkonzentrationen wie auch einen höheren Anstieg in der Reaktion auf Stress (GAILLARD & SPINEDI, 1998). BALDWIN et al. fanden bei gestressten weiblichen Ratten einen höheren Anteil an zirkulierenden Lymphozyten sowie eine gesteigerte Antikörperantwort auf die Immunisierung mit SRBC als bei männlichen Tieren (BALDWIN et al., 1997). Weitere Stressexperimente an Nagern zeigten, dass männliche kastrierte Tiere höhere adrenokortikale Glukokortikoidantworten ausbildeten als männliche intakte Tiere (GASKIN & KITAY, 1970; HANDA et al., 1994b). Eine Gonadektomie bei Mäusen beiderlei Geschlechts resultierte in einer höheren adrenale Glukokortikoidsekretion und einer gesteigerten Immunantwort auf Endotoxin; diese Effekte waren durch eine Testosteronbehandlung vollständig reversibel (GAILLARD & SPINEDI, 1998). Nicht zuletzt sind geschlechtsspezifische Unterschiede auch in Zusammenhang mit physiologischen Alterungsprozessen des Immunsystems beschrieben. GREELEY et al. konnten in einer longitudinalen Untersuchung an Labrador Retrievern zeigen, dass männliche Tiere eine höhere zytolytische Aktivität der natürlichen Killerzellen aufwiesen als weibliche Tiere und dass die altersabhängige Umverteilung der Lymphozyten-Fraktionen bei Hündinnen sehr viel stärker ausgeprägt war

(GREELEY et al., 2001).

#### 2.3.2.1.4. Trächtigkeit

Eine Immunsuppression, oder besser eine gesteigerte Immuntoleranz (DAY & SCHULTZ, 2014i), wird auch während der Trächtigkeit beobachtet (MUNEER et al., 1988; SYKES, 2014a; TIZARD, 2018m). Dabei stellt die Ausbildung und Erhaltung einer Schwangerschaft aus immunologischer Sicht eine Herausforderung für das maternale Immunsystem dar, um einerseits Pathogene effektiv zu bekämpfen und andererseits eine Toleranz gegenüber paternalen Alloantigenen im fetalen Gewebe zu entwickeln. Dieses immunologische Paradoxon beschrieb der Immunologe und Nobelpreisträger Sir Peter Medawar (1915–1987) bereits im Jahr 1953 (DAY & SCHULTZ, 2014i) in seiner damals bahnbrechenden Publikation „*Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates*“ (MEDAWAR, 1953). Über ein komplexes Zusammenspiel vieler verschiedener immunregulatorischer Mechanismen wird eine Abstoßung des Fetus verhindert; es kommt zu einem Shift der maternalen Immunität vom zytotoxischen Th1- hin zum protektiven Th2-Phänotyp (SZEKERES-BARTHO, 2002; DAY & SCHULTZ, 2014i; TIZARD, 2018m). Ein ähnlicher Shift kann auch bei einer Reaktion auf kurzzeitige extrinsische Stressoren beobachtet werden; dies führte auch zu der Hypothese, dass eine Trächtigkeit in gewisser Hinsicht eine natürliche Reaktion auf Stress imitiere (SCHMINKEY & GROER, 2014).

Von der Plazenta werden eine Reihe immunsuppressiver löslicher Faktoren produziert, die die Aktivität der Lymphozyten unterdrücken (TIZARD, 2018m). Eine Hemmwirkung auf die mitogeninduzierte Lymphozytentransformation während der Schwangerschaft ist schon lange bekannt. Bereits in den 1970er Jahren wurde auf Grundlage von Beobachtungen in Leukozytenkulturen beschrieben, dass das Serum von Schwangeren einen inhibitorischen Effekt auf die Reaktivität von Lymphozyten besitzt (KASAKURA, 1971). Dieser Effekt wurde auch beim Tier nachgewiesen. So hemmte z. B. das Plasma trächtiger Schafe in der Lymphozytenkultur die Reaktion auf Mitogene, wie PHA, Con A, PWM und BSA (GRIFFIN & DAVIS, 1985). Das Forschungsinteresse galt zunächst der Analyse bestimmter schwangerschaftsassoziierter plazentaler Serumproteine, wie  $\alpha$ -2-Glykoprotein,  $\beta$ -1-Glykoprotein,  $\alpha$ -1-Fetoprotein oder Choriongonadotropin, die, selbst in physiologischen Konzentrationen, eine unspezifische immunsuppressive

Wirkung in der Leukozytenkultur zeigten und denen deshalb eine Bedeutung bei der Regulation der maternalen Immunantwort gegenüber dem Fetus zugesprochen wurde (CONTRACTOR & DAVIES, 1973; CALDWELL et al., 1975; DAMBER et al., 1975; JOHANNSEN et al., 1976; MORSE et al., 1976; STIMSON, 1976; YACHNIN & LESTER, 1976; CERNI et al., 1977; MURGITA et al., 1978). In einer Untersuchung von STIMSON wurden diese Proteine mittels Affinitätschromatographie sequentiell aus dem Serum entfernt und die verbleibenden Substanzen in der Zellkultur hinsichtlich ihrer Hemmwirkung auf die Lymphozytentransformation untersucht. Ein Großteil der inhibitorischen Aktivität war nicht durch die bekannten Proteine zu erklären, sodass bereits zu diesem Zeitpunkt das Vorhandensein weiterer Hemmfaktoren vermutet wurde (STIMSON, 1980). Heute weiß man, dass regulatorische T-Lymphozyten wesentlich an der Kontrolle adaptiver Immunantworten beteiligt sind, weshalb sie bisweilen auch als „Suppressor-T-Zellen“ bezeichnet wurden (DAY & SCHULTZ, 2014e). Dieser Untergruppe der T-Lymphozyten wird eine entscheidende Rolle bei der balancierten Suppression von Immunantworten beigemessen, sowohl bei der Selbsttoleranz gegenüber Autoantigenen (THORNTON, 2010; DAY & SCHULTZ, 2014e; WING & SAKAGUCHI, 2018) als auch bei der feto-maternalen Toleranz während der Schwangerschaft (GOBERT & LAFAILLE, 2012; SAMSTEIN et al., 2012; ALIJOTAS-REIG et al., 2014; DAY & SCHULTZ, 2014i; LA ROCCA et al., 2014). Daneben sind viele weitere Adaptationsmechanismen an der feto-maternalen Grenzfläche der Plazenta beschrieben, die für den Erhalt der Trächtigkeit essentiell sind; z. B. können einige maternale Antikörper, die gegen fetales Antigen gebildet werden, über einen protektiven Coating-Effekt deren Zerstörung durch maternale T-Zellen verhindern (TIZARD, 2018m).

Die Immunmodulation während der Trächtigkeit in Form eines Shifts zugunsten der regulatorischen T-Zellen und der Th2-Aktivität hat aber nicht nur lokalen, sondern auch systemischen Einfluss. Veränderungen in der Immunantwort sind auch gegenüber nicht-fetalen Antigenen möglich (TIZARD, 2018m). Beispielsweise konnte bei 75 % schwangerer Frauen mit Th1-immunmediierter RA eine vorübergehende Remission beobachtet werden (POPE, 1990), welche entsprechend DAY und SCHULTZ unmittelbar durch eine veränderte T-Zell-Balance zu erklären ist (DAY & SCHULTZ, 2014i). Begleitend kommt es während

einer Trächtigkeit auch zu einem Shift in der Zytokinproduktion, einem Abfall der T-Zellproliferation sowie der zytotoxischen Aktivität natürlicher Killerzellen. Geburtsstress, erhöhte Glukokortikoidproduktion, Immunglobulinsekretion in das Kolostrum und eine negative Energiebilanz haben ebenfalls direkten Einfluss auf die systemische Immunität. So sind v. a. die späte Trächtigkeit und die ersten drei bis vier Wochen nach Geburt durch eine milde Immunsuppression gekennzeichnet (TIZARD, 2018m). Da in vitro primär Auswirkungen auf zellmedierte Immunparameter beobachtet wurden, wurde auch zur Beurteilung der Effektivität einer Impfung während der Trächtigkeit v. a. die zellmedierte Immunität überprüft. Mutterschafe, die am 100. Tag der Trächtigkeit mit BSA und am 120. Tag der Trächtigkeit mit einer gemischten Clostridien-Vakzine geimpft worden waren, zeigten deutlich niedrigere DTH-Reaktionen bei der späteren intradermalen Inokulation mit spezifischen Antigenen als nicht-trächtige Kontrolltiere. Während sich die Reaktion im Hauttest gegenüber Clostridien-Toxoiden nach der Geburt rasch wieder erholte, war die Reaktion gegenüber BSA auch während der Laktation 28 Tagen post partum noch deutlich reduziert (GRIFFIN & DAVIS, 1985).

#### **2.3.2.1.5. Stress**

Ungünstige Haltungsbedingungen, wie etwa die Haltung in größeren Gruppen, führen nicht nur zu einem erhöhten Infektionsdruck, sondern können auch Stress auslösen, welcher sich negativ auf den Immunstatus und damit auf den Impferfolg auswirken kann (GREENE & LEVY, 2012). Psychogener Stress gilt als potenter Induktor von neuroendokrinen Mediatoren, die über nachfolgende Signalwege zu einer Suppression des Immunsystems führen (PRUETT, 2001). Es ist beschrieben, dass Stress die T-Zell-Immunität, die Aktivität der natürlichen Killerzellen und auch die Produktion von IL-2 sowie die Expression des entsprechenden Rezeptors auf den Lymphozyten supprimieren kann (TIZARD, 2018e). Die exakten Auswirkungen von psychogenem Stress auf die Immunantwort sind jedoch komplex (GOLUB & GERSHWIN, 1985; POVEY & CARMAN, 1997f). Eine Messung einzelner Immunparameter zu bestimmten Zeitpunkten gilt als nicht repräsentativ, um die Wirkung von Stress auf den Immunstatus adäquat zu evaluieren (DE GROOT et al., 2001). Manche Stresseffekte, z. B. die Suppression der anti-viralen Immunantwort von Mäusen gegen das Aujeszky-Virus (DE GROOT et al., 1999), sind nur von kurzer Dauer. Da aber viele Studien den dynamischen Charakter der Wirkung von Stress auf das Immunsystem nicht

berücksichtigen, ist es mitunter schwierig, die Ergebnisse verschiedener Studien einzuordnen. Zudem ist durch die vielen wechselseitigen Beziehungen von Immunsystem und Stress auch eine Kompensation eines immunsuppressiven Effekts auf einen einzelnen Parameter möglich (DE GROOT et al., 2001).

Stress kann die Aktivität von Immunzellen auf komplexe Art verändern. Wie sensibel das Immunsystem auf Stress reagiert, wird durch die wechselseitigen regulatorischen Beziehungen zwischen Immunsystem und ZNS über neuroendokrine Signalwege und Zytokine bestimmt (DANTZER & KELLEY, 1989; WEBSTER et al., 2002; PADGETT & GLASER, 2003; GLASER & KIECOLT-GLASER, 2005). Dabei werden hauptsächlich zwei Signalwege zur Stressvermittlung beschrieben: (1) die schnelle Aktivierung des sympatho-adrenomedullären Systems, die eine vermehrte Ausschüttung von Katecholaminen (Adrenalin und Noradrenalin) aus dem Nebennierenmark bewirkt und (2) die Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse, die zur Freisetzung von Hormonen aus Hypothalamus und Hypophyse (z. B. Kortikotropin-Releasing-Hormon (corticotropin-releasing hormone (CRH)), adrenokortikotropes Hormon, Prolaktin, Somatotropin) sowie Glukokortikoiden aus der Nebennierenrinde (z. B. Kortisol, Kortikosteron) führt und weitere Anpassungsleistungen des Organismus gewährleistet. Lymphozyten und andere Zellen des Immunsystems besitzen Rezeptoren für die hypophysären und adrenalen „Stresshormone“ und können über deren Bindung direkt oder auch indirekt, z. B. über Dysregulationen in der Zytokinproduktion, moduliert werden. Weitere Neurotransmitter, Neuromodulatoren und Peptidhormone, wie z. B. endogene Opiode, Serotonin, Somatostatin, Neuropeptid Y oder Substanz P, können in Zusammenhang mit Stress ebenfalls quantitative wie auch qualitative Veränderungen der Immunzellen bewirken (DANTZER & KELLEY, 1989; WEIGENT & BLALOCK, 1997; WEBSTER et al., 2002; GLASER & KIECOLT-GLASER, 2005; TIZARD, 2018e). Die meisten Stresseffekt-Studien fokussierten sich auf folgende vier Hormone oder Hormongruppen: (1) CRH, (2) endogene Opiode, (3) Katecholamine und (4) Glukokortikoide (MOYNIHAN, 2003). Dabei steht v. a. eine erhöhte endogene Glukokortikoidproduktion, ähnlich wie bei Morbus Cushing (siehe auch 2.3.2.1.12.), im Verdacht, die Wirkung von Stress auf das Immunsystem zu vermitteln (BLECHA et al., 1982; GOLUB & GERSHWIN, 1985; ROTH, 1985; COE et al., 1987; MUNEER et al., 1988; DOBBS et al., 1996;

DAY & SCHULTZ, 2014). Glukokortikoide gelten als Haupteffektor und Endpunkt der neuroendokrinen Immunregulation und haben über den Glukokortikoidrezeptor multiple Effekte auf Zellen und Moleküle des Immunsystems (WEBSTER et al., 2002). Aus diesem Grund werden Glukokortikoidmessungen beispielsweise zur Evaluation der anthropogenen Belastung auf freilebende Tierarten genutzt (DANTZER et al., 2014). Allerdings wurden stressinduzierte Veränderungen in vergleichbarer Ausprägung bei Mäusen und Ratten auch nach Adrenalektomie beobachtet (KELLER et al., 1983; ESTERLING & RABIN, 1987). Weiterhin können stressinduzierte erhöhte Glukokortikoidspiegel auch ohne nachweisbare Veränderungen der Immunfunktion vorliegen (MORMEDE et al., 1988; FLORES et al., 1990). Dies belegt, dass Stress die Responsivität des Immunsystems über verschiedene und sehr komplexe Mechanismen zu modifizieren vermag, von denen einige unabhängig von der endogenen Glukokortikoidproduktion sind (DANTZER & KELLEY, 1989).

Abhängig von der Art der Immunantwort und den spezifischen Charakteristika des Stressors, z. B. hinsichtlich Art, Dauer, Intensität, Kontrollierbarkeit und Zeitpunkt des Auftretens in Relation zur Induktion und Expression der Immunantwort, sind unterschiedliche Effekte auf die Immunantwort möglich. So können sich z. B. akuter und chronischer Stress sehr unterschiedlich auswirken (PRUETT, 2001; MOYNIHAN, 2003). Quantitative Assoziationen zwischen Stressor und Veränderungen in der Konzentration neuroendokriner Mediatoren und immunologischer Parametern wurden allerdings nur selten untersucht (PRUETT, 2001). Dennoch gilt als grundsätzlich erwiesen, dass kurzzeitiger, leichter Stress die Immunantwort sogar zu steigern vermag, wohingegen chronisch-persistierender oder sehr starker Stress eine immunsuppressive Wirkung haben (GRIFFIN, 1989; MOYNIHAN, 2003; DAY & SCHULTZ, 2014; TIZARD, 2018e). Akuter Stress ist dafür bekannt, v. a. eine Katecholaminausschüttung zu induzieren; bei chronischem Stress dominiert die Glukokortikoidfreisetzung (SCHERK, 2008). DHABHAR und McEWEN beobachteten die bidirektionalen Effekte von akutem und chronischem Stress auf die antigenspezifische zellmedierte Immunantwort von Ratten. Während akuter Stress zwei bis fünf Stunden vor einer Antigenchallenge die DTH-Reaktion in der Haut und die Umverteilung der Lymphozyten aus dem Blut erhöhte, hatte chronischer Stress über einen Zeitraum von drei Wochen vor der Sensibilisierung den genau gegenteiligen Effekt. Darüber hinaus zeigte sich, dass,

je intensiver der akute Stress war, desto ausgeprägter waren auch die Hautreaktion und die Umverteilung der zirkulierenden Leukozyten (DHABHAR & MCEWEN, 1997). Stressexperimente an Mäusen gaben Hinweis darauf, dass es einen kritischen Zeitpunkt von etwa 72 Stunden nach einer Antigenadministration gibt, in der ein maximaler Stresseffekt auf die Immunantwort auftritt. Wurde ein Stressor zeitgleich oder kurz nach einer Immunisierung gegen SRBC angewendet, hatte dies keinen Einfluss auf die Immunantwort. Wurde der Stressor dagegen 72 Stunden (nicht 24, 48 oder 95 Stunden) nach der Antigenadministration angewendet, kam es zu einer deutlichen Suppression der Immunantwort (ZALCMAN et al., 1988; ZALCMAN et al., 1989). Weiter konnte bei Mäusen demonstriert werden, dass chronischer psychogener Stress sowohl die angeborene als auch die erworbene Immunantwort auf eine vaginale Infektion mit humanem Herpes-Simplex-Virus-1 beeinflussen kann. Dabei war die Zahl an natürlichen Killerzellen, spezifischen CD8-positiven T-Zellen und die Zahl funktionsfähiger Immunzellen (zur Degranulation und Produktion von IFN- $\gamma$ ) reduziert (ASHCRAFT & BONNEAU, 2008). Daten aus der Humanmedizin zeigten, dass sich Stress ebenso auf die humorale Immunität auswirken kann (STONE & BOVBJERG, 1994). Auch bei Hühnern ist belegt, dass chronischer Stress die zellmedierte wie auch humorale Immunantwort verändert. So entwickelten die Tiere im Zuge einer Haltung auf Latten oder nach Fütterung des Stresshormons Kortikosteron sowohl eine reduzierte DTH-Reaktion auf das gereinigte Proteinderivat von *Mycobacterium tuberculosis* wie auch eine niedrigere humorale Immunantwort auf Tetanus-Toxoid und SRBC; die Antikörperantwort auf humanes Serumalbumin war dagegen nicht beeinträchtigt. Damit wurde zugleich erstmals nachgewiesen, dass es je nach Antigen sowohl stressresistente wie auch stressanfällige humorale Immunantworten gibt (EL-LETHEY et al., 2003).

Unterschiedliche Arten von Stress können eine Immunantwort auf ein Antigen oder eine Impfung beeinflussen. Dabei können soziale Stressoren ebenso Auswirkungen auf das Immunsystem haben wie körperliche Stressoren (z. B. Krankheiten, Verletzungen, Schmerz, Östrus, Laktation, körperliche Anstrengung) oder physikalische Stressoren (z. B. Hitze, hohe Luftfeuchtigkeit, Lärm, Schadstoffe) (SCHERK, 2008). Leistungsstressoren (z. B. hohes Arbeitspensum, Erwartungshaltung, Zeitdruck) werden v. a. in der Humanmedizin beschrieben (LUNDBERG & FRANKENHAEUSER, 1999). Sozialer Stress durch hohe

Tierdichte und Vergesellschaftung sind speziell aus der Nutztierhaltung bekannt. Transportstress bei Rindern kann das Immunsystem beeinträchtigen und die Anfälligkeit gegenüber Infektionskrankheiten erhöhen. Dies hat u. a. den Begriff des sogenannten „shipping fevers“ geprägt (POVEY & CARMAN, 1997f; TIZARD, 2018e). Der Stress während des Transports (z. B. durch Platzmangel und minimale Verfügbarkeit von Futter und Wasser) reicht aus, um eine Pneumonie mit Beteiligung verschiedener virale Pathogene und *Mannheimia haemolytica* auszulösen (TIZARD, 2018e). Auch Absetzen kann Stress induzieren. So ist etwa bei Saugkälbern beschrieben, dass ein schnelles Absetzen die humorale Immunantwort über einige Wochen beeinträchtigen kann (MACKENZIE et al., 1997). Ebenso reduziert ein frühes Absetzen die IL-2-Produktion bei Ferkeln. Stress bei trächtigen Sauen hat eine direkte Immunsuppression des Nachwuchses in Form einer reduzierten Mitogenresponsivität der B- und T-Zellen und eine höhere Morbidität und Mortalität zur Folge (TIZARD, 2018e). Eine hohe Tierdichte, mangelnde Hygiene und ungenügende Ventilation sind bei Katzen als soziale Stressoren beschrieben, die die Immunkompetenz signifikant beeinträchtigen können (SCHERK, 2008). Eine andere Form von Stress steht mit den hierarchischen Strukturen innerhalb von Säugetierpopulationen in Verbindung. Rankkämpfe unter Wildhunden, Lemuren oder Mangusten können bei dominanten Tieren zu sozialem Stress führen, während bei Mäusen, Ratten und vielen Affenarten psychologische Einschüchterungen Stress bei rangniedrigen Tieren verursachen (TIZARD, 2018e). Auch in der Hühnerhaltung sind soziale Spannungen, z. B. durch große Gruppengrößen oder eine Vergesellschaftung mit unbekannten Tieren, als Stressoren mit negativen Auswirkungen auf das Immunsystem bekannt (FAHEY & CHENG, 2008a, 2008b; ADRIAANSEN-TENNEKES et al., 2009; CHENG & FAHEY, 2009). Experimente an Schweinen konnten eine Verbindung zwischen sozialem Stress und der Immunität gegen virale Infektionen nachweisen. Dabei führten Veränderungen des Gruppengefüges durch ein Mischen mit unbekannten Tieren und nachfolgenden Rangordnungskämpfen zu höheren Kortisolkonzentrationen im Speichel und höheren Katecholaminausscheidungen über den Urin (DE GROOT et al., 2001).

Nicht zuletzt hat auch die Art, wie ein Individuum mit Stress umgeht und Anforderungen aus der Umwelt bewältigt, einen wichtigen Einfluss auf die Immunfunktionen und damit auch auf die Reaktion auf Impfungen (DANTZER,



1997). In einer Studie wurden Schweine entsprechend ihrem Verhalten in eher aggressive, proaktive Tiere (die dazu neigen, zu kämpfen und sich der Situation anschließend durch eine schnelle Flucht zu entziehen) und passive, reaktive Tiere (die sich sukzessiv aus Stresssituationen zurückziehen) eingeteilt. Schweine vom aggressiven Typ zeigten höhere zellmedierte und niedrigere humorale Immunantworten als Tiere vom passiven Typ. Wurden die aggressiveren Tiere allerdings gestresst, war eine deutlichere negative Beeinträchtigung der zellmedierten Immunantwort zu beobachten als bei den eher passiven Tieren (HESSING et al., 1995). Auch in Zusammenhang mit Transportstress bei Rindern sind, je nach Temperament der Tiere, unterschiedlich starke Auswirkungen auf das Immunsystems möglich. Die neutrophilen Granulozyten ruhigerer Brahman-Bullen zeigten im Vergleich zu neutrophilen Granulozyten temperamentvollerer Bullen 48 Stunden nach dem Transport eine höhere Expression von L-Selectin, einem Adhäsionsmolekül für T-Lymphozyten, sowie eine höhere Phagozytose- und oxidative-burst-Aktivität; zusätzlich hatten temperamentvollere Tiere höhere Kortisol- und Glukosekonzentrationen im Blut (HULBERT et al., 2011). Aufgrund dieser Zusammenhänge wird der Resilienz, also dem Prozess, der es einem Individuum erlaubt, sich widrigen Umständen anzupassen und sich von ihnen zu erholen, auch in der Immunologie eine zunehmende Bedeutung beigemessen (DANTZER et al., 2018).

Die Auswirkungen von Stress auf den Impferfolg von Hunden sind bislang nicht untersucht. Dagegen zeigte das interdisziplinäre Forschungsgebiet der Psychoneuroimmunologie, dass sich Stress bei Menschen nachweislich negativ auf die Effektivität von Impfungen auswirken kann (GLASER & KIECOLT-GLASER, 2005; DEWITT & LUEBKE, 2018). Ältere Menschen, die anhaltendem Stress bei der Betreuung eines Partners mit progressiver Demenz ausgesetzt waren, hatten eine reduzierte Antikörperantwort auf eine Influenza-Vakzine; dies stand mit niedrigeren Serumspiegeln von IL-2 und Interleukin-1 $\beta$  sowie einer verstärkten Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse in Verbindung (KIECOLT-GLASER et al., 1996; VEDHARA et al., 1999). Stress und negative Emotionen waren auch in weiteren Untersuchungen, unabhängig vom Alter, mit einer schlechteren humoralen Immunantwort auf verschiedene Impfungen assoziiert (GLASER et al., 1992; MORAG et al., 1999; MILLER et al., 2004). Dabei konnte gezeigt werden, dass Stress nicht nur die initiale

Immunantwort auf Impfungen beeinträchtigen kann, sondern auch die Dauer einer impfinduzierten Immunität verringert. Menschen, die einen Partner mit Demenz betreuten, hatten innerhalb von sechs Monaten nach Pneumokokkenimpfung einen deutlichen Abfall der spezifischen Antikörper, während die Titer bei Menschen, die keinem derartigen Stress ausgesetzt waren, stabil blieben (GLASER et al., 2000). Bei Studierenden war eine hohe Stressbelastung und ein reduziertes psychisches Wohlbefinden (z. B. Ängstlichkeit, Schlaflosigkeit, soziale Dysfunktion) mit einem niedrigen Antikörperstatus innerhalb von ein bis zwölf Monaten nach Impfung mit einem Meningitis-C-Konjugatimpfstoff assoziiert (BURNS et al., 2002). Auch bei Schweinen ist beschrieben, dass sich sozialer Stress negativ auf einen Impferfolg auswirken kann. Kastrierte Eber, die in einem Experiment jeweils mit einem unbekannten kastrierten Eber eines anderen Wurfs gemischt wurden, entwickelten signifikant niedrigere Immunantworten nach MLV-Impfung gegen Aujeszky und zugleich schwerere klinische Symptome im nachfolgenden Challenge mit Aujeszky-Feldvirus als kastrierte Eber, die nicht mit anderen Tieren gemischt worden waren. In der Studie wurden verschiedene Immunparameter zu vielen verschiedenen Zeitpunkten nach der Applikation des Stressors analysiert. In diesem Zusammenhang wurde auch ein Einfluss von Geschlecht (siehe auch 2.3.2.1.3.) und dominantem Verhalten auf die Immunantwort nach Impfung evident. Wurden zwei Tiere gemischt, die ein mehr agonistisches Verhalten (z. B. Droh- oder Angriffsverhalten) zeigten, war die Immunsuppression ausgeprägter als bei der Mischung unterwürfiger Tiere. Dominante Tiere zeigten einen Shift der Th1/Th2-Balance zugunsten von Th2 sowie eine höhere Virusausscheidung nach Challenge (DE GROOT et al., 2001).

#### **2.3.2.1.6. Körperliche Belastung**

Körperlicher Belastung wird ebenfalls eine Bedeutung als immunologischem Stressor beigemessen (HOFFMAN-GOETZ & PEDERSEN, 1994). Dabei kann sich eine physische Aktivität in Abhängigkeit von Trainingszustand, Intensität und Dauer unterschiedlich auf das Immunsystem und die Immunreaktion nach einer Impfung auswirken. Während ein leichtes bis moderates Training eine Reihe von Immunfunktionen zu steigern vermag, kann eine intensive Belastung unter Umständen immunsuppressiv wirken (SCHERK, 2008; DAY & SCHULTZ, 2014). In der Humanmedizin gilt ein Training von moderater Dauer und Intensität (gemessen an der anaeroben Schwelle) als mit geringeren Auswirkungen und

weniger Stress für das Immunsystem verbunden als lange und/oder hochintensive Trainingseinheiten (PEDERSEN et al., 1994; GABRIEL & KINDERMANN, 1997; NIEMAN, 1997). Viele anstrengungsinduzierte Veränderungen in der Immunabwehr sind identisch zu Veränderungen, die auch in klassischen Stress-Studien beschrieben wurden (NEHLSSEN-CANNARELLA, 1998). Daher wurde körperliche Belastung bereits als Stressmodell bei Pferden (KURCZ et al., 1988; KEADLE et al., 1993; HOROHOV et al., 1996), Rindern (BLECHA & MINOCHA, 1983) und Schweinen (JENSEN-WAERN & NYBERG, 1993; WAERN & FOSSUM, 1993) verwendet. Es wird angenommen, dass die Immunmodulation durch starke körperliche Belastung über die Freisetzung klassischer Stresshormone und Zytokine sowie die Expression von Zelladhäsionsmolekülen einen Shift in der Zahl und Funktion der zirkulierenden Zellen der angeborenen und erworbenen Immunität bewirkt. Dies wird von manchen Autoren als Antwort auf die rasche, bedarfsorientierte Umverteilung der Zellen in und aus dem Blutkreislauf gewertet (NEHLSSEN-CANNARELLA, 1998). Natürliche Killerzellen, neutrophile Granulozyten und Makrophagen gelten als die responsivsten Immunzellen auf akute körperliche Belastung, sowohl was die Zahl als auch was die Funktion anbelangt. Während in Zusammenhang mit einer Langzeitbelastung nahezu einheitlich eine signifikante Erhöhung der Aktivität der natürlichen Killerzellen beschrieben ist, wird über die Auswirkungen auf neutrophile Granulozyten, Makrophagen und Lymphozyten sehr unterschiedlich berichtet (NIEMAN, 1997). Dabei scheint eine Neutrophilie nach körperlicher Aktivität eher von der Dauer als von der Intensität der Belastung bestimmt zu sein; sie wird speziell mit Trainingseinheiten, die mit einem starken Anstieg der adrenokortikotropen Hormone,  $\beta$ -Endorphin und Kortisol einhergehen, in Verbindung gebracht (GABRIEL & KINDERMANN, 1997). Es gibt Hinweise, dass die Funktion der neutrophilen Granulozyten (gemessen an der Phagozytose und Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies) während eines schweren, anstrengenden Trainings eher supprimiert wird (GABRIEL & KINDERMANN, 1997; NIEMAN, 1997). Monozyten im frühen Differenzierungsstadium werden besonders während langen aeroben Trainingseinheiten in den Blutkreislauf rekrutiert. Die Zahl maturer Monozyten („Prämakrophagen“) nimmt v. a. während hochintensiver Belastung zu. Die Effekte von körperlicher Belastung auf die Lymphozytensubpopulationen, speziell auf die T-Zellfunktion, scheinen dagegen weniger stark ausgeprägt zu sein, wenngleich bei Ausdauertraining ein Anstieg der

aktivierten CD45RO-positiven T-Gedächtniszellen verzeichnet wird (GABRIEL & KINDERMANN, 1997). Nicht zu vernachlässigen ist, dass auch mentaler Stress, Unterernährung, schneller Gewichtsverlust und ungenügende Hygiene die Immunfunktion bei körperlichem Training beeinträchtigen können (NIEMAN, 1997).

In der Tiermedizin wurden die Auswirkungen von körperlicher Belastung und damit verbundenem Stress auf die Immunfunktion v. a. bei Pferden untersucht. So analysierten WONG et al. verschiedene Immunparameter bei Pferden in Zusammenhang mit einer einmaligen schweren körperlichen Belastung. Eine hohe Serumkortisolkonzentration und eine hohe Neutrophilen/Lymphozyten-Ratio zeigten an, dass die Pferde gestresst waren. Die Lymphozytenblastogenese auf Mitogenstimulation blieb durch die Belastung ebenso unverändert wie die Immunglobulinspiegel im Serum. Der chemotaktische Index und die luminolabhängige Chemilumineszenz der neutrophilen Granulozyten gingen bereits einen Tag nach dem Training wieder deutlich zurück. Die Autoren folgerten, dass eine einmalige körperliche Belastung lediglich zu einer transienten Beeinträchtigung der antimikrobiellen Funktion der neutrophilen Granulozyten und der unspezifischen Abwehrmechanismen führe, sich aber nicht negativ auf die spezifische Immunität auswirke (WONG et al., 1992). Allerdings ist bei Pferden auch eine stressinduzierte Suppression der zellmedierten Immunität durch intensive körperliche Anstrengung beschrieben (KURCZ et al., 1988; KEADLE et al., 1993; FOLSOM et al., 2001). KURCZ et al. beobachteten bei vier Quarter-Horse-Stuten nach intensivem Laufbandtraining (bis zur körperlichen Erschöpfung) einen signifikanten Anstieg der Serumkortisolkonzentrationen wie auch eine signifikante Suppression der Lymphozytenblastogenese auf eine Mitogenstimulation mit Con A und PHA (KURCZ et al., 1988). Vergleichbare Effekte auf den Kortisolspiegel und die Zellproliferation konnten auch in einer anderen Belastungsstudie an untrainierten Englischen Vollblutpferden bestätigt werden (KEADLE et al., 1993). Weiter konnte nach einer intensiven Trainingseinheit eine erhöhte Aktivität der lymphokinaktivierten Killerzellen nachgewiesen werden. Die Autoren vermuteten eine Induktion über die Freisetzung belastungsabhängiger Neurohormone (HOROHOF et al., 1996). FOLSOM et al. untersuchten die Auswirkungen einer körperlichen Belastung auf die spezifische T-Zell-Immunantwort nach Impfung erstmals in vivo. Geimpfte Ponys, die über fünf

Tage einem körperlich anstrengenden Trainingsprogramm ausgesetzt waren, zeigten *in vitro* eine deutlich reduzierte Lymphozytenproliferation und Produktion von IFN- $\gamma$ . Dieselben Ponys wiesen im nachfolgenden Infektionsversuch eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber dem Influenzastamm auf, der auch im Impfstoff enthalten war; Ponys der Kontrollgruppe ohne körperliche Anstrengung waren dagegen vollständig geschützt (FOLSOM et al., 2001). Ein immunsuppressiver Effekt eines intensiven Ausdauertrainings wird auch bei Schlittenhunden vermutet. So zeigten zehn Schlittenhunde bereits vor einer akuten körperlichen Belastung durch ein Rennen eine Hypoglobulinämie von durchschnittlich 22 g/l, die mit dem Training im Vorfeld erklärt wurde und die sich über die folgenden fünf Renntage, in denen jeweils 160 Kilometer pro Tag absolviert wurden, progressiv verstärkte (MCKENZIE et al., 2007). In einer weiteren Untersuchung wurden Vergleichsmessungen der Antikörpertiter gegen CDV, CAV-2 und CPV vor und nach der Absolvierung des Iditarod-Trails vorgenommen. Statt eines erwarteten Titerabfalls war bei den Schlittenhunden jedoch ein signifikanter Anstieg der Antikörper gegen CDV und CPV zu verzeichnen. Dies wurde mit einer unspezifischen Stimulation der Immunantwort durch die intensive körperliche Aktivität und/oder, insbesondere im Fall von CPV, mit einer natürlichen Exposition während des Rennens in Zusammenhang gebracht (BANSE et al., 2008).

#### **2.3.2.1.7. Außentemperatur**

Hitze und Kälte sind als Stressfaktoren für das Immunsystem bei vielen Spezies bekannt. Jedoch sind die berichteten Effekte auf die Krankheitsresistenz ebenso wie auf die Immunantwort von Tieren uneinheitlich (KELLEY, 1980). Schon früh konnte gezeigt werden, dass eine artifizielle Hyperthermie durch hohe Umgebungstemperaturen von über 30 Grad Celsius (°C) in Verbindung mit einer hohen Luftfeuchtigkeit von 85 bis 90 % negativen Einfluss auf die Wirkung einer Impfung mit hitzeempfindlichen MLV, z. B. gegen CDV, haben kann. Welpen mit einer Rektaltemperatur von durchschnittlich 39,6 °C konnten keine protektive Immunität auf die CDV-Impfung ausbilden und entwickelten im nachfolgenden Infektionsversuch Symptome einer klinischen Erkrankung. Welpen mit einer niedrigeren inneren Körpertemperatur waren hingegen im Challenge ausreichend geschützt (WEBSTER, 1975). Wenngleich CPV als hitzestabil gilt, wird eine Impfung von hyperthermischen oder febrilen Tieren grundsätzlich nicht empfohlen (SYKES, 2014a; DAY et al., 2016). Im umgekehrten Fall ist beschrieben, dass auch

eine Hypothermie die zellmedierte Immunantwort auf eine Impfung von Hunden verringern kann (SCHULTZ, 1980). Ebenso könnten sich plötzliche, ausgeprägte Temperaturschwankungen negativ auf das Impfergebnis auswirken. So entwickelten Junghennen, die in einem Experiment unmittelbar vor der Injektion des Impfstoffs in Umgebungen mit niedrigen oder hohen Temperaturen umgesetzt wurden, eine geringere Antikörperproduktion auf eine Impfung (HENKEN et al., 1983).

#### **2.3.2.1.8. Schadstoffe, Toxine und Strahlenbelastung**

Neben der Temperatur sind auch zahlreiche Toxine und Schadstoffe, wie Blei, Quecksilber, Kadmium oder Jod, dafür bekannt, eine Immunsuppression auszulösen (MUNEER et al., 1988; POVEY & CARMAN, 1997f). Blei kann nahezu alle Komponenten des Immunsystems supprimieren; so verringert es zum einen die humorale Immunantwort durch eine Reduktion der Zahl an antikörperproduzierenden Zellen, beeinträchtigt aber auch die Lymphozytenproliferation nach Mitogenstimulation und interferiert mit der Aktivität der Makrophagen (KOLLER, 1982). In einem Experiment an Kaninchen, denen Blei, Kadmium und Quecksilber über das Trinkwasser zugeführt worden war, wurden bei der nachfolgenden Impfung gegen Pseudowut signifikant niedrigere Antikörpertiter gemessen als bei unbelasteten Kontrolltieren (KOLLER, 1973). Subletale Dosen von 2,3,7,8-Tetrachlordibenzodioxin, das als unerwünschtes Nebenprodukt in vielen chlororganischen Verbindungen enthalten ist oder bei Verbrennungsprozessen (z. B. bei der Müllverbrennung) freigesetzt wird, führte bei Labortieren zu einer Thymusatrophie und einer Suppression der zellmedierten Immunität (THIGPEN et al., 1975; LAMB et al., 1981). Auch Mykotoxine im Futter, wie Aflatoxine (BOONCHUVIT & HAMILTON, 1975; CHEVILLE, 1979) oder Ochratoxine (DWIVEDI & BURNS, 1984), können, je nach Dosis, zu einer Immunsuppression beitragen. Junge Broiler, die intraabdominal mit dem Hühner-Adenovirus-4 infiziert worden waren und zusätzlich über mehrere Wochen täglich Aflatoxin über das Futter erhalten hatten, zeigten eine deutliche Suppression der humoralen wie zellmedierten Immunität; sie entwickelten signifikant niedrigere Antikörpertiter nach einer Impfung gegen Newcastle-Disease und zugleich eine reduzierte Hautschwellung in der DTH-Reaktion nach einer Sensibilisierung mit 2,4-Dinitrochlorobenzol (SHIVACHANDRA et al., 2003). Cyclopiazonsäure, ein Toxin verschiedener

Arten von *Penicillium* und *Aspergillus*, zeigte bei Ratten einen suppressiven Effekt auf die humorale Immunantwort (HILL et al., 1986). Auch für eine Strahlenexposition ist eher eine schädliche Wirkung auf die humorale als auf die zellmedierte Immunantwort beschrieben (MUNEER et al., 1988).

#### **2.3.2.1.9. Ernährung**

Die Interaktionen von Ernährung und Ansprechbarkeit des Immunsystems sind bekanntlich sehr komplex (SHEFFY & WILLIAMS, 1982; SCHERK, 2008). Jedes Ungleichgewicht, Mangel wie Exzess, kann zu einer Beeinträchtigung der Immunantwort führen (DODDS, 2002; DALL'ARA, 2003).

Eine Mangelernährung kann die Immunreaktion auf eine Impfung durch die verminderte Verfügbarkeit von essentiellen Nährstoffen für die Zellteilung und Synthese von Proteinen, wie Antikörpern oder Zytokinen, supprimieren (ROTH & SPICKLER, 2010). Sowohl ein quantitativer wie auch ein qualitativer Mangel an verschiedenen Nährstoffen (z. B. Proteine, Fette, Vitamine und Mikroelemente) können sich nachteilig auf die Funktionalität des Immunsystems auswirken. So ist eine Proteinmangelernährung bei älteren Menschen mit einem Abfall der Lymphozytenproliferation, der Zytokinfreisetzung und einer niedrigeren Antikörperantwort auf Impfungen assoziiert (LESOURD, 1997). Labortiere zeigen bei einem schweren Mangel an Proteinkalorien v. a. einen Rückgang der zellmedierten und der unspezifischen Immunität (Komplement, Chemotaxis, Phagozytose, Opsonierung), wohingegen die Effekte auf die humorale Immunität oft weniger stark ausgeprägt sind (POVEY & CARMAN, 1997f); so bleiben die Immunglobulinspiegel im Serum häufig unverändert (SCHERK, 2008). Einige Autoren führen die immunsuppressiven Effekte auch auf den Abbau von Körperfett und einer erniedrigten Konzentration von Leptin zurück. Neben proinflammatorischen Wirkungen sind für dieses von Adipozyten produzierte Zytokin auch immunstimulatorische Effekte auf Makrophagen und Th1-Funktionen nachgewiesen (DAY & SCHULTZ, 2014l). Adulte Hereford-Stiere, die 142 Tage lang unterernährt wurden, hatten signifikant niedrigere zellmedierte Immunparameter und eine reduzierte Zahl an zirkulierenden Lymphozyten; die Serumspiegel von IgG und IgM, ebenso wie die Antikörperantwort auf *Brucella-abortus*-Bakterin, unterschieden sich aber nicht im Vergleich zu normal- und überernährten Kontrolltieren. Dagegen war die humorale Immunantwort auf Hühnererythrozyten deutlich supprimiert (FISKE & ADAMS, 1985). GRIEBEL et

al. beobachteten bei neonatalen Holstein-Bullen, die über vier Wochen hinweg eine Proteinmangelernährung erhalten hatten, einen Einfluss auf zelluläre wie auch humorale Immunfunktionen. Bereits nach zwei Wochen zeigten die Kälber eine reduzierte Aktivität von IL-2 und eine niedrigere Lymphozytenproliferation wie alterskonforme Kontrolltiere; eine Impfung mit *Escherichia-coli*-K99-Pilus-Antigen resultierte in signifikant niedrigeren spezifischen Antikörpertitern (GRIEBEL et al., 1987).

Mehrfach ungesättigte Fettsäuren, bestimmte Vitamine (z. B. Vitamin A, D, E, sowie bestimmte B-Vitamine) und Spurenelemente (z. B. Kupfer, Eisen, Zink, Chrom, Magnesium, Selen) sind für die Ausbildung einer adäquaten Immunantwort ebenso essentiell (MUNEER et al., 1988; POVEY & CARMAN, 1997f; DODDS, 2002; SCHERK, 2008). So kann ein ausgeprägter Nährstoffmangel, speziell der Mangel an bestimmten Vitaminen und Spurenelementen, Vitamin E und Selen, der Entwicklung einer protektiven Immunantwort, besonders bei der Impfung von Welpen, entgegenwirken. Daher empfehlen internationale Leitlinien zur Impfung von Hunden, bekannte oder mutmaßliche Mangelercheinungen für ein bestmögliches Impfergebnis auszugleichen und im Zweifelsfall eine Nachimpfung vorzunehmen (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017). Hunde mit einem Mangel an Vitamin E und Selen zeigten nach einer Impfung gegen CDV und CAV-1 im Vergleich zu normalernährten Kontrolltieren eine verzögerte und zugleich niedrigere humorale Immunantwort (SHEFFY & SCHULTZ, 1979). Eine diätetische Supplementierung von Antioxidantien könnte, unabhängig vom Alter, einen positiven Einfluss auf die humorale Immunantwort nach einer Impfung haben (SCHERK, 2008). Dabei sollten Supplementierungen einzelner Nährstoffe jedoch stets unter Hinzuziehung eines geschulten Ernährungsberaters erfolgen (DODDS, 2002). Immunstimulatorische Effekte von Vitamin E und Selen sind bei vielen Spezies beschrieben (SHEFFY & SCHULTZ, 1979). Allerdings unterscheidet sich die Wirkung bei verschiedenen Tierarten mitunter deutlich (FINCH & TURNER, 1996). Zudem wird bei der Immunstimulation durch Vitamin E auch eine genetische Variation vermutet (BOA-AMPONSEM et al., 2001). So unterschieden sich verschiedene Hühnerbestände hinsichtlich des Einflusses von diätetischem Vitamin E auf die humorale Immunantwort (BOA-AMPONSEM et al., 2006). Nicht nur bei Hühnern (TENDERDY et al., 1972; MARSH et al., 1981), sondern auch bei Schweinen (ELLIS & VORHIES, 1976) und Rindern (HOGAN et al.,



1993), ist ein positiver Effekt einer Vitamin E-Supplementierung, z. T. in Kombination mit Selen, auf die Antikörperproduktion bekannt. Eine Supplementierung von Selen kann die Expression einiger Interleukine upregulieren und der oxidativen Schädigung von (Immun-)zellen vorbeugen (SCHERK, 2008). Hundewelpen, denen Vitamin C, Vitamin E,  $\beta$ -Carotin und Selen im Futter zugesetzt wurde, entwickelten nach der Impfung gegen CDV und CPV signifikant höhere Antikörpertiter als Welpen der Kontrollgruppe. Dabei konnten durch die Zugabe der Substanzen die Anzahl der zirkulierenden CD4-positiven T-Helferzellen und die Antwort der Lymphozyten auf die Antigenstimulation gesteigert werden (KHOO et al., 2005). Auch für weitere Spurenelemente, wie z. B. Chrom, ist ein positiver Einfluss auf Immunantworten beschrieben (SCHERK, 2008).

Das Bestreben, die Effekte des Alterns zu reduzieren oder zu verlangsamen, eröffnet ebenfalls die Möglichkeit für diätetische Ansätze (DALL'ARA, 2003). So konnte etwa eine zweimonatige Supplementierung von  $\beta$ -Carotin die Proliferation von Lymphozyten auf Mitogenstimulation und die Zahl an CD4-positiven T-Helferzellen bei älteren Hunden steigern (MASSIMINO et al., 2003). Auch Modifizierungen im Gehalt an Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren sowie eine Supplementierung von Vitamin E konnten positive Effekte auf verschiedene immunologische Parameter bei älteren Hunden bewirken (HALL et al., 1999; KEARNS et al., 1999; HALL et al., 2003). Zudem konnte bei Labortieren gezeigt werden, dass eine Kalorienrestriktion die Immunoseneszenz über verschiedene Mechanismen, einschließlich einer Modulation der Genexpression (z. B. eine Erhöhung der Expression von IL-2) und der Signaltransduktion (z. B. eine Aktivierung der upstream-Signalmoleküle), verlangsamen kann (PAHLAVANI, 1998; LEE et al., 1999; PAHLAVANI, 2000; PAHLAVANI & VARGAS, 2000; CAO et al., 2001; PAHLAVANI, 2004). Der positive Effekt einer Kalorienrestriktion auf altersabhängige Veränderungen der Immunfunktion wurde auch bei Hunden bestätigt (GREELEY et al., 2006; LAWLER et al., 2008). Bei 24 Labrador Retrievern, die ab der achten Lebenswoche mit einem Restriktionsprotokoll in Höhe von 75 % der Ration ihres jeweiligen Matching-Partners gefüttert worden waren, konnte der Rückgang der lymphoproliferativen Immunantwort auf Mitogenstimulation deutlich verzögert werden. Auch die altersabhängige Abnahme der absoluten Lymphozytenzahl und typische

Veränderungen innerhalb der T-Lymphozyten-Subpopulationen konnten durch die Kalorienrestriktion beeinflusst werden (GREELEY et al., 2006). Die Verlängerung der medianen Lebenszeit um ca. 1,8 Jahre und ein verzögertes Einsetzen typischer Alterserkrankungen, wie z. B. Osteoarthritis, waren weitere positive Wirkungen der Langzeit-Restriktionsdiät (KEALY et al., 2002; LAWLER et al., 2008). Tabelle 13 gibt einen Überblick, welche Nährstoffsupplementationen sich bei älteren Hunden im Hinblick auf eine verbesserte Immunfunktion am effektivsten erwiesen haben (DALL'ARA, 2003).

**Tabelle 13: Nährstoffe, die die Immunantwort älterer Hunde verbessern können**

Nährstoff	Wirkung	Publikation
<b>Vitamin A</b>	Wirkung auf die spezifische (zellmedierte, humorale, mukosale) und unspezifische Immunität: ↑ Serumantikörpertiter, ↑ Plasmazellen in der Milz, ↑ Motilität und bakterizide Aktivität von neutrophilen Granulozyten	<b>DALL'ARA, 2003</b>
<b>β-Carotin</b>	Vorläufer von Vitamin A; Wirkung auf die spezifische (zellmedierte, humorale) und unspezifische Immunität; zusätzlich antioxidative Wirkung: ↑ Serumantikörpertiter, ↑ Lymphozytenzahl (v. a. T-Helferzellen), ↑ CD4/CD8-Ratio	<b>BENDICH, 1989;</b> <b>JYONOUCHI et al., 1994;</b> <b>CHEW et al., 1998;</b> <b>KEARNS et al., 2000</b>
<b>Vitamin E</b>	Bedarf proportional zum Verbrauch an mehrfach ungesättigten Fettsäuren; universelles Antioxidans; Wirkung auf die spezifische zellmedierte Immunität; zusätzliche Wirkung als Immunmodulator: Inhibition von freien Radikalen und Stabilisierung von Zellmembranen, ↑ Lymphozytenproliferation, ↑ IL-2-Produktion, ↓ PGE-2-Produktion	<b>MEYDANI et al., 1990;</b> <b>MEYDANI &amp; HAYEK, 1995</b> <b>MEYDANI et al., 1997;</b> <b>DE LA FUENTE et al., 1998</b> <b>EVSTIGNEVA et al., 1998;</b> <b>HALL, 1998;</b> <b>MEYDANI et al., 1998;</b> <b>HAJEK et al., 2000</b>
<b>mehrfach ungesättigte Fettsäuren:</b> Linolsäure (n-6), n-Linolensäure (n-3)	essentielle Aufnahme über das Futter; im korrekten Verhältnis n-6 : n-3 positive Wirkung auf spezifische (zellmedierte, humorale) Immunität; bei Exzess immunsuppressive Wirkung	<b>WANDER et al., 1997;</b> <b>KEARNS et al., 1999</b>
<b>Zink</b>	Schlüsselkomponente für viele enzymatische Reaktionen; Prävention der Produktion von freien Radikalen, Wirkung v. a. auf spezifische zellmedierte Immunität: ↑ Fähigkeit der Makrophagen zur Antigenpräsentation, ↑ Aktivität der natürlichen Killerzellen, ↑ Zytokin-Produktion, Regulation der Th1/Th2-Balance	<b>PRASAD, 1998;</b> <b>MOCCHIGIANI et al., 2000</b>

↑: Steigerung, ↓: Verminderung, CD: cluster of differentiation, et al.: et alii (und andere), IL-2: Interleukin-2, PGE-2: Prostaglandin-E2, v. a.: vor allem.

#### **2.3.2.1.10. Intestinales Mikrobiom**

Aufgrund seines herausragenden Stellenwerts für das Immunsystem wird auch dem Mikrobiom im Darm (TIZARD, 2018f) eine zunehmende Bedeutung in Zusammenhang mit der Reaktion auf Impfungen beigemessen. Es wird vermutet, dass die Darmflora mit der Ausbildung der systemischen Immunität von Tieren interagiert (MURAI et al., 2016). So könnten auch Probiotika oder Mikrobiotika die Immunantwort auf bestimmte Antigene positiv modulieren. Katzenwelpen, denen täglich *Enterococcus faecium* SF68 verabreicht wurde, hatten signifikant höhere Konzentrationen an zirkulierenden CD4-positiven T-Helferzellen. Die Antikörpertiter nach der Impfung mit einem Kombinationsimpfstoff waren jedoch vergleichbar mit denen der Kontrollgruppe (VEIR et al., 2007). Dagegen konnten bei Hühnern die Serumantikörpertiter gegen bestimmte intramuskulär injizierte Antigene, wie SRBC und Schlitzschnecken-Hämocyanin (keyhole limpet hemocyanin (KLH)), durch orale Zufuhr unterschiedlicher Arten von Lactobacillen und *Bifidobacterium bifidum* gesteigert werden (HAGHIGHI et al., 2005; BRISBIN et al., 2011). Eine diätetische Supplementierung von Hefezellwandbestandteilen hatte ebenfalls einen immunmodulatorischen Effekt und konnte die Th2-zellmedierte Immunantwort gegen subkutan injizierte SRBC triggern (ALIZADEH et al., 2016). Auch orale Gaben von Virginiamycin, ein verbreitetes Streptogramin-Antibiotikum in der Geflügelproduktion, modulierten das intestinale Mikrobiom von Hühnern und führten zu höheren IgG- und IgM-Serumkonzentrationen gegen subkutan injiziertes KLH (BRISBIN et al., 2008). Dennoch sind Futterzusätze von Antibiotika zur besseren Induktion einer humoralen Immunantwort umstritten und zudem nicht immer erfolgreich. So war eine Kombination von Ampicillin und Neomycin bei neonatalen Hühnern nicht in der Lage, die systemische Antikörperproduktion gegen intramuskulär injizierte Antigene zu steigern; in niedriger Dosis war auch keine Modifikation der Antikörperreaktion auf orale Antigene möglich (MURAI et al., 2016).

#### **2.3.2.1.11. Genetische Faktoren**

Fortschritte in der molekulargenetischen Forschung haben in den letzten Jahren wesentlich zur Aufklärung und zum Verständnis der Entwicklung und Funktion des Immunsystems von Hunden beigetragen (NOLTE, 2018). So sind rassespezifische

Variationen in der Genetik des Immunsystems, genauer in den Genen innerhalb des MHC-Komplexes, beschrieben (DAY, 2007a; DAY & SCHULTZ, 2014m). Die Gene, die dort gebündelt sind, kodieren u. a. für Proteine, die für die Antigenpräsentation an Lymphozyten und somit für die Immunerkennung wichtig sind (DAY & SCHULTZ, 2014d, 2014c; NOLTE, 2018; TIZARD, 2018a, 2018b). Untersuchungen über die drei DLA-Haplotypen DLA-DRB1, DLA-DQA1 und DLA-DQB1, die einen Bestandteil des MHC-Komplexes bilden, zeigen, dass es deutliche Unterschiede zwischen verschiedenen Hunderassen, jedoch nur eine begrenzte Heterogenität innerhalb der jeweiligen Rasse, gibt (KENNEDY et al., 1999a, 1999b; KENNEDY et al., 2002a). Nicht zuletzt wurde auch ein Polymorphismus der DLA-Gene in Hundepopulationen verschiedener geographischer Regionen nachgewiesen (KENNEDY et al., 2002b). Dies könnte erklären, warum sich einzelne Rassen oder auch Zuchtlinien innerhalb einer Rasse in ihrer Immunantwort auf bestimmte Impfungen (oder Infektionskrankheiten) unterscheiden. Studien konnten solche rassespezifischen Reaktionsmuster auch im Feld bestätigen, etwa bei der Antikörperentwicklung nach der Tollwutimpfung (KENNEDY et al., 2005; KENNEDY et al., 2007). Auch rassespezifische Variationen in den zirkulierenden Lymphozyten-Subpopulationen (FALDYNA et al., 2001) und genetische Polymorphismen in Th1/Th2-regulatorischen Zytokinen, wie IL-10 (KENNEDY et al., 2007) könnten zu diesem Effekt beitragen.

Schätzungen zufolge sind etwa 0,1 bis 0,2 % der Hunde Non-Responder auf eine CPV-Impfung (LARSON & SCHULTZ, 2007; DAY et al., 2016). Dagegen sind Low-Responder weitaus häufiger (LARSON & SCHULTZ, 2007). In einer Untersuchung an über 500 Hunden wurde gezeigt, dass annähernd 10 % der Hunde keine oder nur ausgesprochen niedrige Antikörper gegen CPV aufweisen. Diese Hunde können auch auf eine Nachimpfung keine adäquate Immunantwort ausbilden; die Antikörper bleiben unverändert auf einem niedrigen oder nicht nachweisbaren Niveau, oder aber der initiale postvakzinale Titeranstieg fällt innerhalb von sechs Monaten wieder auf den sehr niedrigen Ausgangswert ab (LARSON et al., 2002). Beim Auftreten solcher genetischer Non- oder Low-Responder werden Unterschiede zwischen verschiedenen Rassen als wahrscheinlich angesehen (POVEY & CARMAN, 1997f; GREENE & LEVY, 2012; DAY & SCHULTZ, 2014m). Berichte über Dobermänner und Rottweiler, zweier genetisch verwandter Rassen, hatten bereits Anfang der 1980er Jahre die

Vermutung über Rasseprädispositionen für CPV-Infektionen geweckt (GLICKMAN et al., 1985; HOUSTON et al., 1996). Mittlerweile gilt als erwiesen, dass bestimmte Zuchtlinien beider Rassen nur schlecht bis gar nicht auf die Impfung mit CPV-Vakzinen angesprochen hatten (POVEY & CARMAN, 1997f; GREENE et al., 2001; DAY, 2007b; FORD et al., 2017). Dabei gilt in Deutschland und UK, im Unterschied zu Nordamerika, der Non-Responder-Phänotyp unter Rottweilern noch heute als verbreitet (GREENE & LEVY, 2012; DAY et al., 2016). Da diese Hunde ein erhöhtes Risiko tragen, trotz Impfung an einer schweren Verlaufsform der caninen Parvovirose zu erkranken, sollten sie idealerweise von der Zucht ausgeschlossen werden (DAY et al., 2016).

Auch rassespezifische primäre Immunschwäche-Erkrankungen können den Reifungsprozess von Immunzellen auf unterschiedlichen Ebenen und mit unterschiedlich starken Konsequenzen beeinträchtigen. Diese seltenen kongenitalen Immunopathien gelten als Folge einer Mutation in Genen, die für ein spezifisches immunologisches Molekül kodieren (DAY & SCHULTZ, 2014k, 2014l). Beim Hund sind etwa 40 primäre Immundefizienz-Erkrankungen beschrieben, die vielfach autosomal rezessiv vererbt werden. Nicht zuletzt durch die Bedeutung als biologisches Modell für den Menschen (aufgrund großer Homologien zwischen dem humanen und caninen Genom) (SUTTER & OSTRANDER, 2004) sind einige dieser Immunopathien, wie die canine leucocyte adhesion deficiency bei Irischen Settern (KIJAS et al., 1999; DEBENHAM et al., 2002; FOUREMAN et al., 2002; PFEIFFER & BRENIG, 2005) oder die canine X-linked severe combined immunodeficiency (SOMBERG et al., 1994; FELSBURG et al., 1999) bei Bassett Hounds und Cardigan Welsh Corgis, mittlerweile gut erforscht (DAY, 2007a; DAY & SCHULTZ, 2014l). Auch bei Rottweilern wird ein hereditärer Immundefekt vermutet (DAY, 1999). Die klinische Manifestation einer primären Immunschwäche-Erkrankung setzt typischerweise ein, kurz nachdem die kolostrale Immunität abgebaut ist (DAY & SCHULTZ, 2014k). Dabei kann ein Impfversagen einen Hinweis auf eine zugrundeliegende primäre Immundefizienz darstellen (DAY & SCHULTZ, 2014l). In Anlehnung an Daten aus der Humanmedizin wird derzeit empfohlen, Hunde mit angeborener Immunschwäche wie gesunde Tiere zu impfen (STIKO VET AM FLI, 2017b).

#### **2.3.2.1.12. Krankheiten**

Eine Vielzahl an Erkrankungen und Medikamente können eine für den Impferfolg

relevante Immunsuppression hervorrufen (MUNEER et al., 1988; POVEY & CARMAN, 1997f; GREENE & LEVY, 2012; DAY & SCHULTZ, 2014l; DAY & SCHULTZ, 2014n). Während eine Impfung im akuten Krankheitsfall oder während einer kurzzeitigen immunsuppressiven Therapie nach Möglichkeit zurückgestellt werden sollte, kommen für die Impfung von chronisch immunsupprimierten Hunden eigene spezielle Empfehlungen zur Anwendung (siehe auch 2.2.). Aufgrund der höheren Inzidenz und/oder des höheren Risikos für schwere Krankheitsverläufe impfpräventabler Infektionskrankheiten werden bei immungeschwächten Menschen bestimmte Impfungen (z. B. gegen Influenza oder Pneumokokken) zusätzlich empfohlen (NATIONAL CENTER FOR IMMUNIZATION AND RESPIRATORY DISEASES, 2011; RUBIN et al., 2014; NIEMAN et al., 2015).

Neben einer angeborenen Immunschwäche (siehe auch 2.3.2.1.11.) kann prinzipiell jede chronische infektiöse, entzündliche oder neoplastische Erkrankung eine sekundäre Immunschwäche zur Folge haben. Während einige Infektionserreger, wie CDV oder CPV, über eine direkte Depletion von lymphatischem Gewebe eine Immunsuppression verursachen können, sind andere Erkrankungen, wie Demodikose, tiefe Pyodermie, Pyometra oder disseminierte Aspergillose, mit einer Produktion zirkulierender immunsuppressiver Faktoren verbunden, die die Funktion der Lymphozyten, beispielsweise die Lymphozytenblastogenese, inhibieren können (DAY & SCHULTZ, 2014l). Bakterien, wie *Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis* oder *Pseudomonas aeruginosa*, sezernieren Faktoren, die eine Phagozytose durch die neutrophilen Granulozyten unterdrücken (MUNEER et al., 1988). Intestinale Nematoden, z. B. Hakenwürmer, können IL-10-produzierende regulatorische T-Zellen induzieren (DAY & SCHULTZ, 2014n). Daher sollten Hunde für ein optimales Ergebnis vor einer Impfung entwurmt werden (POVEY, 1986). Tabelle 14 bietet einen Überblick über Infektionen, die direkt mit einer Immunsuppression assoziiert sind und somit mit einer Impfung von Hunden interferieren können (Tabelle 14).

**Tabelle 14: Infektionen, die direkt mit einer Immunsuppression assoziiert sind und mit der Impfung von Hunden interferieren können (in Anlehnung an RASMUSSEN & ARVIN, 1982; MUNEER et al., 1988; POVEY & CARMAN, 1997f)**

Gruppe	Erreger
Viren	CDV CPV
Bakterien	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Gram-negative Bakterien (wie <i>Escherichia coli</i> oder <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ) <i>Staphylococcus aureus</i>
Parasiten	<i>Demodex</i> spp. <i>Toxoplasma</i> spp. <i>Trypanosoma</i> spp.
Pilze	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Candida</i> spp.

CDV: canine distemper virus (canines Staupevirus), CPV: canines Parvovirus, spp.: Spezies.

Auch Endokrinopathien, etwa Diabetes mellitus oder Morbus Cushing, können die Funktion des Immunsystems von Hunden beeinträchtigen, insbesondere wenn die Erkrankung nur ungenügend kontrolliert ist (STIKO VET AM FLI, 2017b). Jedoch ist die Interaktion zwischen Immunsystem und endokrinem System hochkomplex. Einerseits liegt vielen Endokrinopathien, die mit einer Zerstörung endokrinen Drüsengewebes und in der Folge mit einem Hormonmangel einhergehen, z. B. lymphozytäre Thyreoiditis, Diabetes mellitus Typ 1, Hypoparathyreoidismus oder Morbus Addison, ursächlich ein immunmediierter Prozess der T-Zellimmunität zugrunde. Andererseits können Hormonmangelerkrankungen, genauso wie Erkrankungen mit einem Hormonüberschuss, z. B. Morbus Cushing, Auswirkungen auf die zell- und antikörpermedierten Immunfunktionen haben und damit zu einer erhöhten Anfälligkeit für Sekundärinfektionen führen (GRECO & HARPOLD, 1994). Speziell bei Diabetes mellitus sind auch Abweichungen in der Makrophagenfunktion beschrieben (ROBERTSON & POLK, 1974); zudem wird hier eine schlechtere Gewebeperfusion aufgrund von Durchblutungsstörungen in Zusammenhang mit einer Immunsuppression diskutiert (SCHAER, 2008). Ob die in in-vitro-Tests nachgewiesenen Veränderungen immunologischer Parameter bei Diabetes mellitus von klinischer Relevanz in Bezug auf ein adäquates Impfergebnis von Hunden und Katzen sind, ist derzeit nicht bekannt. Ist ein Patient unkontrolliert hyperglykämisch, ist allerdings von einer stärkeren Immunsuppression auszugehen. Daher sollte laut den Experten des European Advisory Board on Cat Diseases ABCD und der StIKo Vet vor einer Impfung stets eine gute Einstellung des

Blutzuckerspiegels erreicht werden (EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2017; STIKO VET AM FLI, 2017b). Verschiedene Untersuchungen aus der Humanmedizin zeigten, dass Impfungen unter Therapie mit Insulin oder oralen Antidiabetika effektiv (d. h. mit einer adäquaten Antikörperproduktion auf die Impfung) und zugleich sicher (d. h. ohne Interferenz mit den Insulinkonzentrationen und der Diabeteskontrolle) sind (BEAM et al., 1980; LEDERMAN et al., 1981; FEERY et al., 1983). So ergab eine Analyse zur Immunität nach Influenzaimpfung bei 1.838 Menschen in der Risikogruppe > 60 Jahren, dass Diabetiker vergleichbar gute Antikörperantworten ausbildeten wie Probanden ohne Diabetes mellitus (GOVAERT et al., 1994). In Zusammenhang mit der Pneumokokkenimpfung wurde beschrieben, dass die Höhe der Antikörperproduktion bei Diabetikern weder mit der Dauer der Erkrankung noch mit der Insulindosis korrelierte; prä- und postvakzinale Titer waren bei Diabetikern und Probanden der Kontrollgruppe nahezu identisch (LEDERMAN et al., 1981).

Über die Effektivität von Impfungen bei Morbus Cushing sind weder Daten aus der Human- noch aus der Tiermedizin verfügbar. Die StIKo Vet geht davon aus, dass bei gut eingestellter Erkrankung Impfungen analog zu gesunden Hunden durchgeführt werden können, ohne dass eine Beeinträchtigung des Impfergebnisses auftritt (STIKO VET AM FLI, 2017b). Dagegen muss bei schlecht kontrollierter Erkrankung, ähnlich wie bei einer längerfristigen, systemischen Anwendung exogener Glukokortikoide oder erhöhten endogenen Glukokortikoidspiegeln in Zusammenhang mit Stress (DAY & SCHULTZ, 2014l), mit einer inadäquaten Immunantwort (v. a. durch Suppression der T-Lymphozyten) gerechnet werden (DAY & SCHULTZ, 2014n) (siehe unten).

Bei einer Asplenie ist ebenfalls von einer reduzierten Funktionalität des Immunsystems auszugehen. So ist in der Humanmedizin beschrieben, dass die Antikörper splenektomierter Patienten nach Pneumokokkenimpfung innerhalb des ersten Jahres nach Splenektomie nahezu linear um etwa 24 bis 32 % abfallen (GIEBINK et al., 1981). Daher wird auch bei Hunden und Katzen nach iatrogener Milzentfernung zu einer speziellen Vorgehensweise bei der Impfung geraten; neben der Möglichkeit zur Detektion des Immunschutzes mittels Antikörperbestimmung, können hier auch häufigere Auffrischungsimpfungen indiziert sein (STIKO VET AM FLI, 2017b).

Weiter kann sich jede Erkrankung, die zu erniedrigten Proteinkonzentrationen



führt, negativ auf die Immunglobulinkonzentration im Blut auswirken (SCHERK, 2008). Ein schweres Trauma kann durch massive Freisetzung von immunsuppressiven Kortikosteroiden, Prostaglandinen und aktiven Peptiden ebenfalls eine Immunsuppression zur Folge haben (SCHERK, 2008).

Retrovirusinfektionen sind in der Kleintiermedizin im Zusammenhang mit der Impfung von Katzen relevant. Die Besonderheiten bei der Impfung FeLV- und feline-Immunschwächevirus- (FIV) infizierter Katzen sind in den aktuellen ABCD-Guidelines zur Impfung immunsupprimierter Katzen (EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2017) und der Stellungnahme der StIKo Vet zur Impfung immunsupprimierter und alter Patienten in der Kleintierpraxis (STIKO VET AM FLI, 2017b) zusammengefasst. Dabei ist beiden Expertengruppen zufolge bei FeLV-infizierten Katzen generell ein weniger kompletter Impfschutz mit kürzerer DOI zu erwarten, wohingegen das Impfergebnis bei FIV-infizierten Katzen wesentlich vom individuellen Immunstatus und dem Stadium der Infektion bestimmt wird. Beim Hund sind keine vergleichbaren Infektionen bekannt. Weiter findet sich in beiden Guidelines jeweils ein Kapitel zur Impfung bei chronischer Niereninsuffizienz (CNI), eine Erkrankung, die v. a. bei älteren Katzen häufig vorkommt, beim Hund jedoch nur eine untergeordnete Rolle spielt. In Anlehnung an die Erkenntnisse humanmedizinischer Studien, die bereits in den 1980er Jahren die Wirksamkeit von Pneumokokkenimpfungen bei CNI-Patienten (einschließlich Patienten unter Hämodialyse oder nach Transplantation) untersuchten (SIMBERKOFF et al., 1980; COSIO et al., 1981; LINNEMANN et al., 1981, 1986; RYTEL et al., 1986), wird auch bei Katzen mit CNI eine reduzierte Antikörperproduktion und kürzere DOI speziell nach Erstimpfung und bei fortgeschrittenem Krankheitsverlauf vermutet. Dabei wurden von den Expertengruppen verschiedene Pathomechanismen, wie Mangelernährung, Urämie und nicht zuletzt das meist fortgeschrittene Alter der Patienten, angeführt, wodurch es zu einer Beeinträchtigung der Immunantwort kommen kann. Obwohl Katzen mit CNI ein erhöhtes Risiko eines ungenügenden Immunschutzes gegen impfpräventable Infektionskrankheiten, wie feline Panleukopenie, aufweisen (MENDE et al., 2014), wird eine Impfung speziell dieser Patienten aber kritisch diskutiert (EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2017; STIKO VET AM FLI, 2017b) (siehe auch 2.3.1.2.4.).

Der immunsuppressive Effekt von Tumorerkrankungen ist in vielen Studien

nachgewiesen (MUNEER et al., 1988). Abgesehen von der Anwendung immunsuppressiver, zytostatischer oder zytotoxischer Medikamente im Rahmen der Therapie (siehe auch Tabelle 15) sind verschiedene Mechanismen für tumorassoziierte Störungen der Antikörperproduktion und die Defizienz in der zellmedierten Immunantwort onkologischer Patienten beschrieben (STIKO VET AM FLI, 2017b). Dabei kann die Art der Immunsuppression je nach Tumortyp variieren. Auch geht ein aktives Tumorwachstum mit einem profunden Proteinverlust einher, welcher ebenfalls die Immunantwort beeinträchtigen kann (DODDS, 2002). Um die Progression der Erkrankung und die Metastasenbildung zu fördern, bilden maligne Tumoren ein immunsuppressives Netzwerk aus (MUCHA et al., 2016); dieses wird über verschiedene lösliche Signalmoleküle, wie IL-10, transforming growth factor  $\beta$ , oder den vascular endothelial growth factor aus tumorassoziierten Makrophagen, vermittelt und über die Blut- und Lymphgefäße verbreitet (KIM et al., 2006). In diesem Zusammenhang wird auch der Tumormikroumgebung eine zentrale Bedeutung beigemessen (SPANO & ZOLLO, 2012). So können etwa tumorassoziierte Makrophagen durch die Produktion von Chemokinen, wie den CC-Chemokin-Ligand-2, aus mesenchymalen Stroma-/Stammzellen innerhalb des Tumors angelockt werden (DAY & SCHULTZ, 2014h). Allerdings sind die Interaktionen zwischen Tumor und Immunsystem sehr komplex und in Modellen werden immer wieder neue, noch unbekannte Faktoren entdeckt, die zu einer spezifischen Immunsuppression führen können. So wurde etwa in kultivierten Splenozyten von Mäusen mit murinem Mammakarzinom 4T-1 eine spezifische Suppression der Sekretion von IFN- $\gamma$  gefunden, die über ein lösliches Protein mit einem molekularen Gewicht zwischen 10 und 100 Kilodalton vermittelt wurde (KANO, 2015). Auswirkungen auf die zirkulierenden Immunzellen von Hunden wurden mittels Durchflusszytometrie und Immunphänotypisierung untersucht. So sind bei Hunden im fortgeschrittenen Stadium verschiedener Tumorerkrankungen niedrigere Zahlen verschiedener Lymphozyten-Subtypen dokumentiert; dabei ist typischerweise die CD4/CD8-Ratio im Vergleich zu alterskonformen gesunden Kontrolltieren erhöht (WATABE et al., 2011; KARAYANNOPOULOU et al., 2017). Bei Vorhandensein von Fernmetastasen wurde ein deutlicher relativer Abfall der CD3- und der CD8-positiven T-Lymphozyten beobachtet (WATABE et al., 2011). Bei Hunden mit Mammatumoren im klinischen Stadium II und III war eine Beeinträchtigung der zellmedierten Immunität speziell durch eine relative Suppression der

zytotoxischen CD8-positiven T-Zellen evident (KARAYANNOPOULOU et al., 2017). Eine weitere Studie, die die Immunsuppression während der Entwicklung von Mammatumoren untersuchte, konnte zeigen, dass die Zahl regulatorischer T-Zellen im Vergleich zu gesunden Hunden erhöht ist; außerdem wurde mit fortschreitendem Krankheitsverlauf ein zunehmender Anstieg der myeloiden Suppressorzellen beobachtet (MUCHA et al., 2016). Diese heterogene Zellpopulation in meist unreifen Entwicklungsstadien induziert Moleküle und Faktoren, die für das Tumorwachstum und die Neovaskularisation essentiell sind; sie besitzen aber auch eine potente inhibitorische Aktivität auf tumorspezifische wie auch unspezifische T-Lymphozyten und tragen damit wesentlich zur Dysfunktion der T-Zell-vermittelten Immunantwort bei (SERAFINI et al., 2006). WALTER et al. konnten bei Hunden mit Osteosarkom und Lymphom reduzierte T-Zell-Zahlen im Vergleich zu alterskonformen, gesunden Hunden nachweisen; Hunde mit Osteosarkom zeigten zusätzlich signifikant niedrigere B-Zell-Zahlen als Hunde mit Lymphom (WALTER et al., 2006). Speziell beim caninen Lymphom ist eine Beeinträchtigung der zellmedierten Immunität durch Studien zur Lymphozytenstimulation durch Mitogene, dem Überleben allogener Hauttransplantate und der Antwort auf Tuberkulinproben nach einer Impfung mit BCG gut belegt (WEIDEN et al., 1974; DUTTA et al., 1978; CALVERT et al., 1982). Hunde mit soliden nicht-hämatologischen Neoplasien zeigten in einer Untersuchung von WEIDEN et al. keine Suppression der humoralen Immunität; die Serum-IgG-Konzentrationen waren ähnlich hoch wie die gesunder Hunde (WEIDEN et al., 1974). Allerdings können einige spezielle Tumoren, wie das multiple Myelom und einige Lymphome, auch zu Veränderungen der Antikörperproduktion führen, insbesondere wenn die Tumorzellen Paraproteine, also abnormale Immunglobuline, sezernieren, die zugleich mit der normalen Antikörperproduktion interferieren (SCHAER, 2008; DAY & SCHULTZ, 2014h). So wird eine Immunsuppression bei Myelompatienten, neben der Erschöpfung der immunologischen Ressourcen durch exzessive Produktion tumoröser Plasmazellen, auch in hohem Maß auf eine negative Feed-Backregulation durch erhöhte Serumglobulinspiegel zurückgeführt (TIZARD, 2018c). Weiter kann eine Metastasierung in das Knochenmark, z. B. bei Lymphomen oder Karzinomen, zu einer Myelophthase führen, was wiederum eine hochgradige Neutropenie und eine schwere Immunsuppression zur Folge haben kann (SCHAER, 2008).

Nicht zuletzt wird die Immunkompetenz von Tumorpatienten aber auch entscheidend durch die Therapie beeinträchtigt. Daher ist es schwierig, eine isolierte Betrachtungsweise in Hinblick auf die Wirksamkeit von Impfungen vorzunehmen. Eine Metaanalyse aus der Humanmedizin zeigte, dass bei Tumorpatienten bereits vor Beginn einer Chemotherapie eine reduzierte humorale Immunantwort auf Impfungen ausgebildet wird (LEHANE & LANE, 1974). Eine andere humanmedizinische Studie verfolgte die Antikörperentwicklung nach Hepatitis-B-Impfung bei Tumorpatienten mit ( $n = 51$ ) und ohne ( $n = 114$ ) zytotoxische Chemotherapie; sie konnte zeigen, dass der GMT nach drei Impfungen bei Patienten unter Chemotherapie deutlich niedriger war als bei Patienten, die keine Chemotherapie erhielten, und dass der als Grenzwert definierte minimale Antikörpertiter unter Chemotherapie häufiger nicht erreicht wurde (33 % versus 3 %). Patienten, die wegen solider Tumoren behandelt wurden, zeigten eine schlechtere Immunantwort als Patienten, die wegen hämatologischer Malignome therapiert wurden. Lediglich drei von 25 Patienten mit hämatologischen Tumoren erreichten nicht den kritischen Grenzwert, im Vergleich zu sechs von elf Patienten mit soliden Tumoren (HOVI et al., 1995). Ein genau gegenteiliger Effekt wurde in einem Reviewartikel zur Impfung von Kindern mit Leukämie und anderen Tumorerkrankungen beschrieben; demnach war die Immunantwort von Kindern, die wegen Leukämie behandelt wurden, im Vergleich zu Kindern, die wegen solider Tumoren behandelt wurden, stärker beeinträchtigt (RIDGWAY & WOLFF, 1993). Abgesehen vom Einfluss des zugrundeliegenden Tumors und der damit verbundenen Therapieunterschiede, spiegelt das Ergebnis der Untersuchung von HOVI et al. v. a. die starke Immunsuppression während einer Chemotherapie wider (HOVI et al., 1995). In der Tiermedizin gibt es keine Studien, die isoliert die Auswirkung von Tumoren auf Impfungen untersuchten, sondern nur Studien zur Qualität der impfinduzierten Immunität bei Hunden unter Chemotherapie. Auf Grundlage der Erkenntnisse aus der Humanmedizin muss aber bei onkologischen Patienten von einem deutlichen Einfluss der Therapie auf die Immunität ausgegangen werden (siehe auch 2.3.2.1.13). Bei tumorassoziierten Störungen der Antikörperproduktion wird ein Impferfolg als unwahrscheinlich erachtet (EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2017).

#### **2.3.2.1.13.    Medikamente**

Die Anwendung immunsuppressiver, zytostatischer oder zytotoxischer

Medikamente kann die Immunantwort von onkologischen Patienten oder Patienten mit immunmedierten Erkrankungen reduzieren (DAY & SCHULTZ, 2014n). Dieser Effekt ist abhängig von der jeweiligen Dosis und der Behandlungsdauer (GREENE & LEVY, 2012; TIZARD, 2018r). Tabelle 15 bietet einen Überblick über die wichtigsten therapeutischen Agenzien, die den Impferfolg bei Hunden beeinträchtigen können (Tabelle 15).

**Tabelle 15: Therapeutische Agenzien, die mit einer Immunsuppression oder Immunmodulation assoziiert sind (Daten entnommen aus BRITISH MEDICAL JOURNAL, 1968; FINCH, 1980; RASMUSSEN & ARVIN, 1982; MUNEER et al., 1988; POVEY & CARMAN, 1997f; RUSLANDER, 2005; INITIATIVE TIERMEDIZINISCHE SCHMERZTHERAPIE (ITIS), 2012; CULMAN, 2014; DAY & SCHULTZ, 2014n; HERDEGEN, 2014; REX & HAMANN, 2016; TIZARD, 2018r, 2018n)**

Gruppe	Agens
Zytotoxika/Zytostatika	<p><u>Alkylantien und andere Quervernetzer:</u>  Stickstoff-Lost-Derivate (z. B. Cyclophosphamid, Ifosfamid, Mechlorethamin, Chlorambucil, Melphalan)  Alkylsulfonate und Ethylenimine (z. B. Busulfan, Thiotepe)  Nitrosoharnstoff-Derivate (z. B. Lomustin, Carmustin)  Platin-Verbindungen (z. B. Cisplatin, Carboplatin)  Monofunktionelle Alkylantien (z. B. Procarbazin, Dacarbazin)  Mitomycine (z. B. Mitomycin C)</p> <p><u>Antimetaboliten:</u>  Folsäure-Antagonisten (z. B. Methotrexat)  Pyrimidinanaloga (z. B. 5-Fluoruracil, Cytarabin)  Purinanaloga (z. B. 6-Mercaptopurin, Pentostatin, Azathioprin)</p> <p><u>Mitosehemmstoffe:</u>  Vinka-Alkaloide und deren Derivate (z. B. Vincristin, Vinblastin)  Taxane (z. B. Paclitaxel, Docetaxel)  Halichondrine/Halichondrin-B-Analoga (Eribulin)</p> <p><u>Interkalierende Antibiotika und ähnliche:</u>  Bleomycine (z. B. Bleomycin)  Actinomycine (z. B. Actinomycin D)  Anthrazykline (z. B. Doxorubicin, Epirubicin, Daunorubicin, Idarubicin)  Synthetische Antibiotika (z. B. Mitoxantron)</p> <p><u>Topoisomerase-Hemmstoffe:</u>  Topoisomerase-I-Inhibitoren (z. B. Topotecan)  Topoisomerase-II-Inhibitoren (z. B. Etoposid)</p> <p><u>Sonstige zytotoxisch/zytostatisch wirksame Substanzen und Enzyme:</u>  Tyrosinkinase-Inhibitoren (z. B. Masitinib, Toceranib)  Ribonukleotidreduktase-Hemmer (z. B. Hydroxycarbamid)  Mitotane</p>

**Fortsetzung Tabelle 15:**

Gruppe	Agens
<b>Glukokortikosteroide</b> (in aufsteigender Potenz)	Cortison Hydrocortison Prednison/Prednisolon Methylprednisolon Triamcinolon Flumethason Dexamethason Betamethason
<b>Immunsuppressiva/ Immunmodulatoren</b>	<u>Hemmung der Purin- und Pyrimidin-Nukleotidsynthese:</u> Azathioprin (siehe auch: Zytotoxika/Zytostatika, Antimetaboliten) Methotrexat (siehe auch: Zytotoxika/Zytostatika, Antimetaboliten) Mycophenolat-Mofetil Leflunomid  <u>Immunophiline/Calcineurin-Inhibitoren:</u> Ciclosporin Tacrolimus  <u>mTOR-Inhibitoren:</u> Sirolimus Everolimus  <u>Sonstige immunmodulatorisch wirksame Substanzen:</u> Oclacitinib Sulfasalazin Penicillamin
<b>(Hyper-)Immunsera/ Antikörper</b>	Polyklonales Antilymphozytenserum, Antithymozytenserum Polyklonale Antikörper (z. B. (humane) intravenöse Immunglobuline) Monoklonale Antikörper (z. B. canine-IL-31-Antikörper (Lokivetmab)) Zytokine (z. B. rekombinante Interferone, rekombinante Granulozyten-Kolonie-stimulierende Faktoren)
<b>Antibiotika</b>	Aminoglykoside (z. B. Gentamicin) Cephalosporine (z. B. Cefazolin, Cefalexin) Sulfonamide (z. B. Sulfamethoxazol) Trimetophrim Phenole (z. B. Chloramphenicol) Tetrazykline (z. B. Tetrazyklin, Doxyzyklin, Chlortetrazyklin, Oxytetrazyklin, Minozyklin) Lincosamide (z. B. Clindamycin) Rifamycine (z. B. Rifampicin) Makrolidantibiotika (z. B. Erythromycin) Nitrofurane (z. B. Nitrofurantoin) Steroidantibiotika (z. B. Fusidinsäure) Chinolone (z. B. Nalidixinsäure)
<b>Antimykotika</b>	Imidazole (z. B. Miconazol, Clotrimazol) Griseofulvin Amphotericin B
<b>Sonstiges</b>	Opioide (z. B. Buprenorphin, Butorphanol, Codein, Fentanyl, (L-) Methadon, Morphin, Tramadol)

IL-31: Interleukin-31, mTOR: mechanistic target of rapamycin, z. B.: zum Beispiel.

Viele Medikamente, die zur anti-Tumor-Chemotherapie eingesetzt werden, haben einen direkten hemmenden Effekt auf die Zellteilung und damit, v. a. über die Depletion von B- und T-Lymphozyten (HARRIS et al., 1976), auch auf die

humorale und zellmedierte Immunität (SCHAER, 2008). Allerdings gibt es hinsichtlich der immunsuppressiven Wirkung deutliche Unterschiede zwischen verschiedenen Chemotherapeutika. Daten aus der Humanmedizin zeigen, dass durch die Anwendung zytotoxischer Substanzen unterschiedliche Komponenten des Immunsystems variabel beeinträchtigt werden. So kann der Grad der Lymphozytendepletion je nach Behandlungsprotokoll unterschiedlich stark ausgeprägt sein (HARRIS et al., 1976; TEN BERGE et al., 1984; SABBIONI et al., 1999; KUBOTA et al., 2001). Eine intermittierende Chemotherapie wirkt allgemein weniger immundepressiv auf die zellmedierte Immunität als ein kontinuierliches Behandlungsprotokoll (OLDHAM et al., 1976). Antimetaboliten, wie Methotrexat, Cytarabin oder 6-Mercaptopurin, wird eine generalisierte immunsuppressive Wirkung attribuiert (PERITI & MINI, 1987). Alkylantien, wie Cyclophosphamid, sind für ihre hohe Affinität zu schnellteilenden Zellen und ihre ausgeprägte myelosuppressive Wirkung bekannt, durch die es zu hochgradigen Neutropenien kommen kann (SCHAER, 2008). Allerdings ist der immunsuppressive Effekt von Cyclophosphamid stark dosisabhängig (PERITI & MINI, 1987); niedrige Dosen können die humorale Immunität sogar potenzieren und z. B. die anti-Tumor-Immunität von Granulozyten-Monozyten-Kolonie-stimulierende-Faktor-sezernierenden Vakzinen verstärken (EMENS et al., 2001; EMENS et al., 2004; EMENS et al., 2009). Auch für einige weitere Agenzien ist eine immunstimulatorische Wirkung belegt, z. B. für Taxane, die zur Behandlung von fortgeschrittenem Brustkrebs eingesetzt werden (CHAN & YANG, 2000; TSAVARIS et al., 2002), oder auch für Doxorubicin-Derivate (PERITI & MINI, 1987; FORNASIERO et al., 1992; EMENS et al., 2009). Cisplatin kann in Ergänzung zu einer Immuntherapie den anti-Tumor-Effekt immuner Lymphozyten verstärken (FORMELLI et al., 1988). Patienten unter adjuvanter Chemotherapie mit Doxorubicin und hochdosiertem Methotrexat zeigten keine signifikanten Beeinträchtigungen verschiedener Parameter der zellmedierten Immunität, wie Lymphozytenfunktionstests oder DTH-Reaktionen in der Haut (ROTH et al., 1978). Eine Kombinationstherapie mit Doxorubicin und IL-2 steigerte die Immunität von Mäusen gegen murines Nierenzellkarzinom; nach Behandlung waren die Mäuse im Rechallenge mit vitalen Tumorzellen resistent und bildeten eine tumorspezifische T-Zell-medierte kutane DTH-Reaktion aus (GAUTAM et al., 1991). In einer klinischen Studie an Patienten mit metastasiertem triple-negativen Brustkrebs konnte durch eine Behandlung mit Doxorubicin und Cisplatin

die Tumormikroumgebung moduliert und ein Ansprechen auf eine nachfolgende Immuntherapie verbessert werden (VOORWERK et al., 2019).

Auf die humorale Immunität sind ebenfalls unterschiedliche Effekte einer Chemotherapie beschrieben. Zahlreiche humanmedizinische Untersuchungen stützen die Hypothese, dass eine Chemotherapie die Antikörperantwort supprimiert. So wurden bei Chemotherapie-Patienten teilweise niedrige oder fehlende Antikörper gegen Hepatitis B (LOCASCIULLI et al., 1985; ROSEN et al., 1992; RIDGWAY & WOLFF, 1993; HOVI et al., 1995; ZIGNOL et al., 2004), Masern (FELDMAN et al., 1988; REINHARDT et al., 2003; ZIGNOL et al., 2004), Mumps (REINHARDT et al., 2003; ZIGNOL et al., 2004), Röteln (FELDMAN et al., 1988; ZIGNOL et al., 2004), Poliomyelitis (REINHARDT et al., 2003; ZIGNOL et al., 2004), Diphtherie (REINHARDT et al., 2003), Influenza (LO et al., 1993; RIDGWAY & WOLFF, 1993) und Tetanus (ZIGNOL et al., 2004) nachgewiesen; dabei kommt sowohl ein frühzeitiger Verlust einer erworbenen spezifischen Immunität durch vorangegangene Impfungen oder Infektionen ebenso wie eine verminderte Ansprechbarkeit auf Impfungen (sowohl auf eine Erstimpfung, als auch auf Auffrischungsimpfungen) während und auch nach der Chemotherapie in Betracht. Allerdings kann der Effekt der Chemotherapie auf die Antikörperantwort je nach Impfantigen variabel sein; z. B. lässt sich die Immunität gegen Tetanus und Poliomyelitis meist weniger stark beeinflussen (RIDGWAY & WOLFF, 1993; ZIGNOL et al., 2004). Auch das Impfschema (LO et al., 1993) und die Intensität der Therapie (RIDGWAY et al., 1991; EK et al., 2004, 2006; CALAMINUS et al., 2007) haben Auswirkungen auf das Impfergebnis. Zudem wurden Unterschiede in der Immunantwort von Patienten nachgewiesen, die wegen soliden Tumoren und hämatologischen Malignomen therapiert wurden (RIDGWAY & WOLFF, 1993; HOVI et al., 1995) (siehe auch 2.3.2.1.12.). Trotz Immunsuppression aufgrund der Therapie (und der zugrundeliegenden Erkrankung) sind onkologische Patienten dennoch in der Lage, protektive Immunantworten auf bestimmte Toxoid-Impfstoffe, Polysaccharid-Konjugatimpfstoffe und andere Virusvakzinen auszubilden (AMBROSINO & MOLRINE, 1993). So konnten in einigen Studien Antikörper gegen Poliomyelitis (PATEL et al., 2007), Diphtherie (RIDGWAY et al., 1991; RIDGWAY & WOLFF, 1993), Tetanus (RIDGWAY et al., 1991; RIDGWAY & WOLFF, 1993; REINHARDT et al., 2003; PATEL et al., 2007), aber auch Masern (PATEL et al.,



2007), Röteln (REINHARDT et al., 2003), Influenza (RIDGWAY et al., 1991) und Hepatitis B (PILECKI et al., 1995) über die Therapie erhalten oder trotz intensiver Therapie induziert werden. Selbst nach dem Ende einer Chemotherapie kann das Immunsystem in seiner Funktion und demzufolge auch in der Immunantwort auf eine Impfung noch einige Zeit beeinträchtigt sein (ALANKO et al., 1992; MUSTAFA et al., 1998), wobei Dauer und Grad der Ausprägung ebenfalls variieren. In Abhängigkeit zur Intensität der vorangegangenen Therapie sind signifikante Unterschiede in Antikörperkonzentrationen auf impfpräventable Erkrankungen möglich, was mit einer geringeren Zahl antikörpersezernierender Zellen erklärt wird (EK et al., 2004, 2006; CALAMINUS et al., 2007). Speziell eine Depletion der CD4-positiven Lymphozyten und damit eine Beeinträchtigung der zellmedierten Immunität wird bei einigen Patienten noch lange über das Therapieende hinaus beobachtet (AZUMA et al., 1998; SARA et al., 1999). Die B-Zellimmunität, und damit die Fähigkeit zur Ausbildung einer adäquaten Antikörperreaktion auf eine Impfung, kann innerhalb von drei bis sechs Monaten nach Therapieende wiederhergestellt sein (ALANKO et al., 1992; REINHARDT et al., 2003). Andere Studien gehen sogar von einer noch längeren Beeinträchtigung der humoralen Immunkompetenz über einen Zeitraum von neun bis zwölf Monaten aus (MUSTAFA et al., 1998). So gilt bei Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie der Nachweis von Antikörpern gegen Diphtherie und Tetanus als Zeichen der Erholung des Immunsystems und der Wiederkehr des immunologischen Gedächtnisses (CALAMINUS et al., 2007).

Im Gegensatz zur guten Datenlage in der Humanmedizin ist über die Auswirkung zytotoxischer Medikamente auf die Immunantwort von Hunden, insbesondere auf eine impfinduzierte Immunität, bisher nur wenig bekannt (HENRY et al., 2001). MEDLEAU et al. untersuchten die akuten Effekte einzelner Dosen L-Asparaginase (400 IE/kg KGW intravenös), Cyclophosphamid (10 mg/kg KGW intravenös) und Vincristin (0,025 mg/kg KGW intravenös) auf die humorale und zellmedierte Immunfunktion von Hunden. Dabei zeigte sich, dass die Anwendung von L-Asparaginase eine Suppression der Lymphozytenblastogenese und der humoralen Immunantwort auf SRBC zur Folge hatte. Bei zeitgleicher Verabreichung aller drei Chemotherapeutika wurde zusätzlich eine Suppression der Antikörperproduktion auf BSA beobachtet. Wurden Hunde dagegen nur mit Vincristin oder Cyclophosphamid behandelt, war kein Effekt auf die getesteten humoralen und

zellmedierten Immunparameter festzustellen (MEDLEAU et al., 1983). Weiter finden sich in der älteren Literatur einzelne Beschreibungen über suppressive, z. T. fatale Wirkungen auf die Immunfunktion von Hunden nach Anwendung von Methotrexat, Antilymphozyten- und Antithymozytenserum (THOMAS et al., 1963; SLATER, 1970; MUNEER et al., 1988), die jedoch keinem etablierten Chemotherapieprotokoll entsprechen. Speziell für die Anwendung von heterologem Antilymphozytenserum, das v. a. als Immunsuppressivum bei Hunden nach Nieren- oder Lebertransplantation eingesetzt wurde (STARZL et al., 1967; SHANFIELD et al., 1968; BRAF & HUME, 1969; DIETHELM et al., 1969; SMITH et al., 1969), ist ein zytotoxischer Effekt auf Lymphozyten mit deutlicher Suppression der kutanen DTH-Reaktion, aber nur geringer Beeinträchtigung der Antikörperproduktion bekannt (PICHLMAYR et al., 1967a; PICHLMAYR et al., 1967b; STARZL, 1968). Nach aktueller Datenlage ist davon auszugehen, dass eine bereits vor Therapiebeginn ausgebildete Immunität über eine nachfolgende Standardchemotherapie erhalten bleibt. So fand eine prospektive Studie an Hunden mit Lymphomen ( $n = 16$ ) und anderen malignen Tumorerkrankungen ( $n = 21$ ) keine signifikanten Veränderungen der spezifischen Antikörpertiter gegen CPV, CDV und Tollwut während einer Chemotherapie. Dabei wurden Lymphompatienten mit einem verbreiteten Protokoll aus Cyclophosphamid, Vincristin, Cytarabin und Prednison (MADEWELL & THEILEN, 1987) behandelt, das im Stadium V oder zur erneuten Induktion einer Remission durch L-Asparaginase (10.000 bis 20.000 Einheiten/Quadratmeter ( $m^2$ ) Körperoberfläche (KOF)) ergänzt wurde; bei Auftreten von hämorrhagischer Zystitis erfolgte ein Austausch von Cyclophosphamid durch Chlorambucil (6 mg/ $m^2$  KOF) (HENRY et al., 2001). Eine andere Studie untersuchte bei Hunden mit Lymphomen ( $n = 12$ ) oder Osteosarkomen ( $n = 9$ ) die Auswirkungen zweier anderer gängiger Chemotherapieprotokolle auf die Zahl an T- und B-Lymphozyten sowie auf die humorale Immunantwort nach einer Erstimpfung. Eine Behandlung mit Doxorubicin (fünf Behandlungen über 15 Wochen mit einer Dosis von jeweils 30 mg/ $m^2$  KOF) hatte keinen signifikanten Abfall der T- oder B-Zell-Zahl zur Folge. Dagegen führte eine Behandlung mit einer Kombinationschemotherapie nach einem etablierten Protokoll zur Lymphomtherapie beim Hund, bestehend aus Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin, Prednison und L-Asparaginase (CHOP-LAsp-Protokoll) (ROSENTHAL, 1996; FAN, 2003), zu einem signifikanten und persistierenden Abfall der B-Zell-Zahl. Die Antikörpertiter nach

Impfung waren aber vergleichbar mit denen der Kontrollgruppe. Die Autoren folgerten, dass eine Chemotherapie bei Hunden generell weniger Auswirkungen auf die T-Zell-Immunität habe und zugleich die Fähigkeit zur Ausbildung einer adäquaten humoralen Immunantwort weniger stark beeinträchtigt werde, als in der Vergangenheit vermutet wurde (WALTER et al., 2006).

Neben Chemotherapeutika können auch viele weitere Medikamente eine für den Impferfolg relevante Immunsuppression hervorrufen. Speziell gegen eine Impfung von Tieren unter Glukokortikoidtherapie bestehen traditionell Bedenken (POVEY & CARMAN, 1997f). Dabei wird in der aktuellen Impfempfehlung von immunsupprimierten Katzen (EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2017) selbst bei Dosen unterhalb des immunsuppressiven therapeutischen Grenzwertes von 2 mg/kg KGW Prednisolon eine Interferenz mit der Impfung als wahrscheinlich erachtet (STIKO VET AM FLI, 2017b). Kritisch gilt insbesondere eine längerfristige Anwendung von mehr als zwei Wochen (STIKO VET AM FLI, 2017b), wobei die immunsuppressive Wirkung einer alternierenden Gabe als weniger ausgeprägt bewertet wird (GREENE & LEVY, 2012). Auch wird der Effekt auf Boosterimpfungen geringer eingeschätzt als auf eine Erstimpfung gegen ein unbekanntes Antigen (GREENE & LEVY, 2012). Unter Berücksichtigung von Speziesunterschieden haben Glukokortikoide sehr vielfältige Effekte auf Leukozyten, wie z. B. die Zellmembranstabilisierung von Granulozyten, Mastzellen und Makrophagen (und dadurch eine Inhibition der Freisetzung von Entzündungsmediatoren und proinflammatorischer Zytokine), die Hemmung der T-Zellfunktion (einschließlich der Veränderung der Balance funktionaler T-Zellsubpopulationen), aber auch eine schwächere indirekte Inhibition der B-Zellaktivierung (über die Inhibition der T-Helferzellen) sowie eine Herabregulation der Fc-Rezeptor-Expression phagozytotischer Zellen (DAY & SCHULTZ, 2014n; TIZARD, 2018r). Viele dieser Informationen sind aus der humanmedizinischen Forschung oder von Laborexperimenten mit Nagern abgeleitet; es finden sich nur wenige Studien in der Literatur, die die tatsächlichen Auswirkungen einer Glukokortikoidtherapie auf das Immunsystem von Hunden untersuchten (DAY & SCHULTZ, 2014n). Eine Studie verglich die Effekte einer zweiwöchigen Therapie mit Prednisolon (in einer immunsuppressiven Dosis von 2 mg/kg KGW zweimal täglich) oder/und Azathioprin auf die zirkulierenden Lymphozytenfraktionen und die Serumkonzentrationen von IgG, IgM und IgA bei

gesunden Beagle. Hunde, die ausschließlich mit Prednisolon behandelt worden waren, zeigten einen Abfall der Serumkonzentration aller Immunglobulinklassen ebenso wie niedrigere zirkulatorische Zahlen der CD4- und CD8-positiven T-Zellen und der B-Lymphozyten. Dagegen hatte eine Monotherapie mit Azathioprin (höchstwahrscheinlich aufgrund des verzögerten Wirkungseintritts von etwa zehn Tagen) keine signifikanten Veränderungen zur Folge. Eine Kombinationstherapie mit Prednisolon und Azathioprin zeigte subtilere Veränderungen mit einer selektiven Reduktion der IgG-Konzentration und niedrigeren CD8-positiven T-Zellen und einem Anstieg des Verhältnisses von CD4- zu CD8-positiven Lymphozyten (RINKARDT et al., 1999). Eine weitere Studie analysierte nach einer dreitägigen Anwendung von Prednisolon (in einer Dosis zwischen 1,66 und 2,24 mg/kg KGW einmal täglich) mittels Antikörpermarkierung und Durchflusszytometrie die Veränderung der Lymphozytensubpopulationen in den Lymphknotenaspiraten von gesunden Mischlingshunden. Über einen Zeitraum von 38 Tagen hatte selbst eine kurzzeitige Anwendung von Glukokortikoiden einen signifikanten Abfall von T-Lymphozyten, v. a. der CD4-positiven T-Zellen, zur Folge. In Aspiraten, die über 24 Stunden mit Prednisolon kultiviert worden waren, war zusätzlich eine DNA-Fragmentierung nachweisbar; damit konnte in vitro eine glukokortikoidinduzierte Apoptose demonstriert werden (AMMERSBACH et al., 2006).

Studien, die die Auswirkungen einer Glukokortikoidtherapie auf den Impferfolg bei Hunden und Katzen untersuchten, zeigen uneinheitliche Ergebnisse. So hatte in der Untersuchung von NARA et al. die Anwendung von oralem Prednisolon über einen Zeitraum von drei Wochen keine signifikante Beeinträchtigung des Impferfolgs bei Hunden zur Folge. In dieser Studie waren Beaglewelpen entweder mit einer Dosis von 1 oder 10 mg/kg KGW Prednisolon behandelt worden; die Dosis war in der ersten Woche zweimal täglich, in der zweiten Woche einmal täglich und in der dritten Woche jeden zweiten Tag verabreicht worden. Drei Tage nach der Impfung wurde ein Infektionsversuch mit infektiösem CDV durchgeführt. Obwohl es durch die Glukokortikoidtherapie zu einer deutlichen Suppression der Lymphozytenblastogenese kam, war kein signifikanter Effekt auf die impfinduzierte Immunität zu beobachten; alle geimpften Welpen waren im Infektionsversuch geschützt (NARA et al., 1979). Zu einem vergleichbaren Ergebnis kamen auch BLANCOU et al. Sie konnten zeigen, dass die Anwendung

von 0,25 mg/kg KGW Dexamethason (was einer Dosis von 1,25 mg/kg KGW Prednisolon entspricht) bei Hunden vor und nach der Erstimpfung gegen Tollwut keine negative Wirkung auf die spezifische Antikörperbildung hatte (BLANCOU et al., 1981). Auch POVEY und CARMAN ermittelten im Zusammenhang mit der Impfung von Katzen mit einem inaktivierten Kombinationsimpfstoff gegen felines FHV-1, FCV und FPV keine signifikanten Unterschiede in der humoralen Immunantwort und nach Challenge, unabhängig davon, ob die Katzen zeitgleich zur Impfung mit Glukokortikoiden (dreimal 2,25 mg Prednisolon und 0,75 mg Dexamethason intramuskulär im Abstand von zwei Tagen) erhalten hatten (POVEY & CARMAN, 1997f). Dagegen konnten MENDE et al. eine Glukokortikoidtherapie, speziell wenn diese über einen längeren Zeitraum von mindestens elf Wochen erfolgt war, als Risikofaktor für fehlende Antikörper gegen FPV identifizieren (MENDE et al., 2014).

Abgesehen von Azathioprin und Mycophenolat-Mofetil wird v. a. Ciclosporin beim Hund häufig (vielfach auch in Kombination mit Glukokortikoiden) als Immunsuppressivum zur Behandlung verschiedener immunmediierter Erkrankungen eingesetzt (RIEDER & MISCHKE, 2018). Ciclosporin ist das einzige in der Veterinärmedizin zugelassene Immunsuppressivum für Indikationen wie die canine atopische Dermatitis (systemische Anwendung) oder eine Reihe von immunmedierten Erkrankungen des Auges (topische Anwendung). Dabei wirkt Ciclosporin selektiv auf die Funktion der T-Lymphozyten und führt über die Bindung und Blockade von Calcineurin zur Hemmung der IL-2-Produktion und der Lymphozytenproliferation. Durch die Wirkung auf T-Helferzellen führt Ciclosporin auch indirekt zu einer Suppression der B-Zell-Antwort (DAY & SCHULTZ, 2014n). Erkenntnisse bezüglich des Einflusses auf die Impfung von Hunden können aus Studien an Katzen abgeleitet werden. So ist bei einer Ciclosporintherapie, ähnlich wie bei einer Glukokortikoidtherapie, davon auszugehen, dass v. a. die primäre Immunantwort beeinträchtigt wird, wohingegen die anamnestiche Immunantwort auf Auffrischungsimpfungen erhalten bleibt. Katzen, die über vier Wochen täglich mit 24 mg/kg KGW Ciclosporin behandelt worden waren (was einer mehr als dreifachen Überschreitung der therapeutischen Dosis entspricht), zeigten keine humorale Immunantwort auf eine Grundimmunisierung gegen FIV. Dagegen entwickelten sie eine adäquate Protektion auf eine Auffrischungsimpfung gegen FPV, FHV-1, FCV, FeLV und

Tollwut, wenn auch die Antikörperproduktion gegen FHV-1, FeLV und Tollwut im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe verzögert erfolgte oder weniger Antikörper gebildet wurden (ROBERTS et al., 2015). Eine ältere Studie, in der zehn Katzen vier Wochen lang mit einer täglichen Dosis von 20 mg/kg KGW Ciclosporin behandelt worden waren, konnte bei fünf Katzen eine Beeinträchtigung der zellmedierten Immunantwort in Form einer supprimierten Lymphozytenblastogenese nachweisen (LATIMER et al., 1986). Seit dem Jahr 2013 ist mit Oclacitinib, einem Januskinase-Inhibitor, auch ein Immunmodulator zur Juckreizbehandlung im Rahmen der atopischen Dermatitis des Hundes zugelassen. Obwohl auch unter der Anwendung von Oclacitinib eine Abnahme der mittleren Leukozytenzahl (exklusive der Lymphozytenfraktion) beschrieben ist, konnte bei 16-Wochen-alten Welpen, die das Medikament über 84 Tage in einer Dosis von 1,8 mg/kg KGW zweimal täglich erhalten hatten (was einer 3,0 bis 4,5-fachen Überschreitung der initialen therapeutischen Dosis entspricht), eine ausreichende humorale Immunantwort nach Impfung gegen CDV und CPV nachgewiesen werden. Dagegen war die Immunantwort auf eine Impfung gegen Tollwut und Parainfluenza im Vergleich zu unbehandelten Welpen reduziert (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2019b). Bei dem caninisierten monoklonalen Antikörper Lokivetmab, der seit dem Jahr 2017 ebenfalls eine Marktzulassung für die Behandlung der klinischen Manifestationen der caninen atopischen Dermatitis besitzt, ist entsprechend der Gebrauchsinformation des Herstellers nicht von einer Interferenz mit der Impfung auszugehen; hier sollte bei gleichzeitiger Verabreichung lediglich auf unterschiedliche Injektionsstellen geachtet werden (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2019a).

Für eine Reihe antimikrobieller Agenzien sind ebenfalls immunsuppressive Wirkungen beschrieben (siehe auch Tabelle 15). So können z. B. Chloramphenicol, Clindamycin oder Griseofulvin das Knochenmark supprimieren und über eine Neutropenie zu einer Immundefizienz führen (SCHERK, 2008). In den meisten Fällen gilt der immunsuppressive Effekt von Antibiotika und Antimykotika jedoch als zu gering, um eine praktische Relevanz zu erreichen (MUNEER et al., 1988). Viele antimikrobielle Agenzien wirken erst in hohen Dosen immunsuppressiv; zudem werden sie meist nur kurzzeitig eingesetzt. Dennoch ist für einige Medikamente, wie Doxzyklin, Tetrazyklin oder Cefalexin, eine Immunsuppression bereits in therapeutischen Konzentrationen beschrieben

(FINCH, 1980). Doch selbst Hunde, die aufgrund von Hauterkrankungen über einen längeren Zeitraum (> zwölf Monate) mit Tetrazyklinen und Niacinamid behandelt worden waren, zeigten keine Beeinträchtigung der humoralen Immunantwort nach einer Impfung gegen CPV und CDV (MUELLER et al., 2002). Ebenso wenig hatte die Anwendung von Chloramphenicol (dreimal täglich 50 mg/kg KGW über zwei Wochen) einen negativen Einfluss auf die Immunantwort nach einer Impfung gegen CDV; alle Hunde erwiesen sich im nachfolgenden Infektionsversuch als resistent, wohingegen die ungeimpften Kontrolltiere schwer erkrankten (NARA et al., 1982).

#### **2.3.2.1.14. Anästhesie und Operationen**

Allgemeinanästhesien und Routineoperationen scheinen die Responsivität des Immunsystems von Hunden und Katzen nur indirekt zu beeinträchtigen (GREENE & LEVY, 2012). Wenngleich in vielen Studien bei Anwendung von Anästhetika eine reversible und kurzzeitige Suppression der Immunfunktion über komplexe metabolische und endokrinologische Stressreaktionen beschrieben ist (KONABOUN et al., 2005), und operative Eingriffe unter Vollnarkose nachweislich zu einer reduzierten Lymphozytenstimulierbarkeit führen (KELLY, 1980), wurde bislang kein klinisch relevanter Einfluss einer Anästhesie oder Operation auf die Immunantwort auf eine Impfung nachgewiesen (SCHERK, 2008). So hatte in einer Studie von MIYAMOTO et al. eine Impfung von Hunden gegen CDV und CPV im Zeitraum von zehn Tagen vor bis zu drei Tagen nach einer Operation keinen nachteiligen Effekt auf die humorale Immunantwort. Vielmehr zeigten die Hunde eine gute Produktion von Antikörpern, insbesondere gegen CPV. 17 von 20 Hunden (85 %) entwickelten innerhalb von 28 Tagen einen mindestens vierfachen Titeranstieg auf die Impfung, davon neun Hunde (45 %) bereits innerhalb der ersten drei bis sieben Tage. Nur ein einziger von sechs Hunden ohne CPV-Antikörper vor der Impfung zeigte keine adäquate Antikörperproduktion innerhalb des vierwöchigen Untersuchungszeitraums. Im Vergleich zur guten humoralen Immunantwort war die zellmedierte Immunreaktion, gemessen mittels Lymphozytenblastogenese in Reaktion auf Con A und PHA, dagegen bei den meisten der neun untersuchten Hunde dezent reduziert. In der Studie kamen verschiedene Anästhesieprotokolle mit unterschiedlichen Inhalations- (Lachgas, Isofluran, Enfluran) und Injektionsanästhetika (Ketaminhydrochlorid, Lidocainhydrochlorid) zum Einsatz. Es wurden größtenteils (85 %; 17/20)

Vakzinen mit inaktiviertem CPV verwendet; nur drei Hunde (15 %; 3/20) wurden mit CPV-MLV geimpft. Die Hälfte der Hunde (50 %; 10/20) hatte die Impfung am Tag der Operation erhalten; sechs Hunde (30 %; 6/20) waren vor und vier Hunde (20 %; 4/20) nach der Operation geimpft worden. Die Autoren leiteten aus den Ergebnissen ihrer Untersuchung ab, dass es zweckmäßig sei Routineoperationen nach Möglichkeit erst sieben Tage nach der Impfung durchzuführen, da hier mit großer Wahrscheinlichkeit bereits von einer guten humoralen Immunantwort auszugehen ist (MIYAMOTO et al., 1995). Eine prospektive Studie an 32 SPF-Katzenwelpen konnte ebenfalls belegen, dass eine Narkose und Kastration zeitgleich oder in kurzem zeitlichem Abstand vor oder nach der Erstimpfung die Antikörperantwort nicht beeinträchtigt. Gemäß Studienprotokoll wurde die Grundimmunisierung gegen FPV, FHV-1 und FCV in der achten, elften und 14. Lebenswoche durchgeführt; zusätzlich erhielten die Welpen Impfungen gegen Tollwut in der 14. und 17. Lebenswoche. Die Kastration erfolgte in der siebten, achten oder elften Lebenswoche; Welpen der Kontrollgruppe erhielten keinerlei Behandlungen (weder Kastration noch Narkose). Insgesamt bildeten 31 % (gegen FPV), 0 % (gegen FCV), 69 % (gegen FHV-1) und 9 % (gegen Tollwut) der Welpen keine adäquate Antikörperantwort auf die Impfung aus. Dabei war es unerheblich, wann oder ob überhaupt eine Kastration unter Allgemeinanästhesie durchgeführt worden war. Nach Auffassung der Autoren war die hohe „Versagensquote“ vielmehr auf die Tatsache zurückzuführen, dass die Grundimmunisierung gegen FPV, FCV und FHV-1 nur bis zur 14. Lebenswoche erfolgt war und daher von einer Neutralisation des Impfantigens durch MDA ausgegangen werden musste (REESE et al., 2008). Laut den Leitlinien zur Impfung von Kleintieren, die sich auf Ergebnisse der beiden oben genannten Studien beziehen, können Hunde und Katzen, falls nötig, im perioperativen Zeitraum geimpft werden (FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2017b). Vorrangig aus Sicherheitsbedenken (Verkennen einer möglichen Hypersensitivitätsreaktion) wird diese Praxis jedoch nicht routinemäßig empfohlen (GREENE & LEVY, 2012; DAY et al., 2016; FORD et al., 2017).

#### **2.3.2.2. Faktoren, die den Impfstoff betreffen**

Neben Faktoren, die im individuellen Hund selbst oder in seiner Umwelt liegen, kann die Ursache für ein Impfversagen ebenso in einer verringerten Immunogenität des Impfstoffs begründet sein. Unter diesem Oberbegriff können eine Vielzahl



verschiedener Faktoren zusammengefasst werden, angefangen vom Impfstoffdesign über den Herstellungsprozess und die Lagerung bis hin zur Applikation beim einzelnen Tier. Impfstoffe verschiedener Hersteller können sich durch ihre spezifischen Komponenten, speziell den enthaltenen Antigenen und der Qualität der Additive, wie Adjuvantien oder Konservierungsstoffe (VIDOR, 2007b), in der Potenz, der Effektivität und der induzierten Immunitätsdauer unterscheiden (ROTH & SPICKLER, 2010) (siehe auch 2.1.1.).

#### **2.3.2.2.1. Impfstämme und Impfstoffherstellung**

Impfstoffe mit inaktiviertem CPV wurden sukzessive durch effektivere Impfstoffe mit attenuierten lebenden Viren ersetzt (ROTH & SPICKLER, 2010). Aber auch für verschiedene CPV-MLV, die in den 1990er Jahren auf dem Markt verfügbar waren, wurden erhebliche Unterschiede in der Wirksamkeit nachgewiesen (LARSON & SCHULTZ, 1997; CARMICHAEL, 1999). Für CDV-Vakzinen verschiedener Hersteller sind ebenfalls deutliche Unterschiede in der Immunogenität belegt. So zeigte eine Untersuchung an knapp 5.000 Serumproben finnischer Hunde, dass Hunde, die mit dem Impfstoff Dohyvax<sup>®</sup> (CDV-Stamm: Onderstepoort, Stoffmenge: mindestens  $10^{2,5}$  GKID<sub>50</sub>, Wirtssystem: Hühnerembryo-Fibroblasten, Hersteller: Solvay Animal Health), Canlan<sup>®</sup> (CDV-Stamm: Onderstepoort, Stoffmenge: mindestens  $10^{3,7}$  GKID<sub>50</sub>, Wirtssystem: Vero-Zellen, Hersteller: Langford Laboratories) oder beiden geimpft worden waren, signifikant niedrigere spezifischere Antikörper hatten als Hunde, die die immunogeneren CDV-Impfstoffe Candur<sup>®</sup> (CDV-Stamm: Rockborn, mindestens  $10^{3,0}$  GKID<sub>50</sub>, Wirtssystem canine Nierenzellen, Behringwerke), Duramune<sup>®</sup> (CDV-Stamm: Rockborn, Stoffmenge: mindestens  $10^{3,3}$  GKID<sub>50</sub>, Wirtssystem: canine Nierenzellen, Hersteller: Fort Dodge Laboratories) oder Nobivax<sup>®</sup> (CDV-Stamm: Onderstepoort, Wirtssystem: Vero-Zellen, Hersteller: Intervet) erhalten hatten oder in Kombination zumindest einmal mit einer der drei zuletzt genannten Vakzinen geimpft worden waren. Eine altersstratifizierte Analyse ergab, dass v. a. junge Hunde im Alter von bis zu zwei Jahren nach Anwendung der weniger immunogenen Impfstoffe häufig keine CDV-Antikörper gebildet hatten. War die Erstimpfung dagegen mit einer der immunogeneren Impfstoffe erfolgt, waren mehr Hunde geschützt. Eine geringe Impfstoff-Immunogenität konnte nicht hinlänglich durch eine häufigere Applikation kompensiert werden (RIKULA et al., 2000; RIKULA, 2008). Die Verwendung einer dieser wenig immunogenen, aber zugleich

sehr beliebten, Impfstoffe gilt auch als ursächlich für den kritischen Abfall der Herdenimmunität in der finnischen Hundepopulation, die im Jahr 1994/95 zu Staupeausbrüchen (v. a. in Regionen mit hoher Hundedichte) geführt hatte. So war unter den virologisch bestätigten Krankheitsfällen der Anteil an Dohyvac®-geimpfter Hunde am höchsten (EK-KOMMONEN et al., 1997). Nachträgliche Berechnungen der Herdenimmunität zeigten, dass diese trotz eines guten Durchimpfungsgrades während der endemischen Phase 1990 bis 1993 bei nur 50 bis 56 % lag. Nachdem Dohyvac® vom Markt genommen worden war und die Prädominanz durch Markteinführung der neuen immunogeneren Vakzinen Nobivac® und Duramune® (siehe oben) abgelöst wurde, konnte die Herdenimmunität ab dem Jahr 1995 signifikant gesteigert werden (RIKULA et al., 2007; RIKULA, 2008). Retrospektive Antikörpermessungen in Serumproben gesunder, geimpfter Hunde aus der Zeit des Höhepunkts und des Rückgangs der Krankheitsausbrüche konnten einen eindeutigen Zusammenhang zwischen dem Ende der Epidemie und der Zunahme von CDV-Antikörpern bei jungen Hunden belegen (EK-KOMMONEN et al., 1997). Sporadische Berichte über Staupeausbrüche bei geimpften Hunden, die mit der Anwendung ungenügend immunogener, kommerzieller Impfstoffe in Verbindung gebracht wurden, sind auch aus anderen Ländern bekannt (GLARDON & STÖCKLI, 1985; HARDER et al., 1991; BLIXENKRONE-MØLLER et al., 1993; MORI et al., 1994). Dies unterstreicht die Wichtigkeit der Forderung, die Effektivität von Impfstoffen nicht nur unter Laborbedingungen, sondern auch in Feldversuchen zu überprüfen (RIKULA et al., 2000).

Impfstämme werden üblicherweise durch eine Serie von Passagen in Zellkulturen oder unnatürlichen Wirten entwickelt. Die meisten veterinärmedizinischen Impfstoffe enthalten eine Mischpopulation verschiedener Pathogene mit multiplen Mutationen; nur wenige sind aus identischen biologischen Klonen hergestellt. So kann es durch die Entstehung neuer nicht-immunisierender Mutanten zu Impfstoffen mit reduzierter Wirksamkeit kommen. Deshalb gibt das master-seed-Prinzip für die Impfstoffproduktion eine limitierte Zahl an Passagen vor (CARMICHAEL, 1999). Werden Impfstoffe nicht den aktuellen Gegebenheiten im Feld angepasst, kann dies zu Problemen führen (KAPIL & COOPER, 2008). Ein hochattenuierter Impfstamm ist unter Umständen nicht in der Lage, eine vollständige Protektion vor einer Erkrankung durch einen hochvirulenten

Feldstamm zu induzieren. Besonders wenn in der Umwelt neue antigene Varianten auftreten, kann es trotz einer korrekten Impfung dazu kommen, dass eine Erkrankung nicht vollständig verhindert werden kann (ROTH & SPICKLER, 2010). Verschiedene antigene Varianten (CPV-2, CPV-2a, CPV-2b und CPV-2c) können Auslöser der caninen Parvovirose sein (GREENE & DECARO, 2012). Die meisten der noch heute auf dem Markt befindlichen CPV-Impfstoffe basieren jedoch noch immer auf dem ursprünglichen CPV-2, das in der Umwelt nicht mehr existiert (PARRISH et al., 1991; DECARO et al., 2011). Einige neuere Impfstoffe enthalten attenuiertes CPV-2b (siehe auch 2.1.1. und 2.1.2.). Es gibt aber bislang keine Impfstoffe auf Basis von CPV-2a, das (auch mit neuen, zusätzlichen Mutationen) häufig in Asien (CHINCHKAR et al., 2006; KANG et al., 2008; YOON et al., 2009; PHROMNOI et al., 2010; ZHANG et al., 2010; MUKHOPADHYAY et al., 2014; XU et al., 2015; NOOKALA et al., 2016; YI et al., 2016; ZHOU et al., 2017; AHMED et al., 2018) und geographisch isolierten Regionen, wie UK (DECARO et al., 2007a; DAVIES, 2008), Griechenland (NTAFIS et al., 2010), Japan (DOKI et al., 2006; OHSHIMA et al., 2008), Sardinien (DEI GIUDICI et al., 2017) und Australien (MEERS et al., 2007), aber auch in vielen anderen Ländern Europas und der Welt (TRUYEN et al., 2000; DECARO et al., 2011; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; GREENE & DECARO, 2012) isoliert wird. Ebenso existieren keine Impfstoffe auf Basis von CPV-2c, das mittlerweile in vielen europäischen Ländern, wie Deutschland (DECARO et al., 2007a; DECARO et al., 2011), Italien (BUONAVOGLIA et al., 2001; MARTELLA et al., 2004; DECARO et al., 2005c; DECARO et al., 2006b; DECARO et al., 2007a; DECARO et al., 2011), Spanien (DECARO et al., 2006c; DECARO et al., 2007a; DECARO et al., 2011), Portugal (DECARO et al., 2007a; JOÃO VIEIRA et al., 2008; MIRANDA et al., 2016), Griechenland (NTAFIS et al., 2010), Frankreich (DECARO et al., 2011), UK (DECARO et al., 2007a) oder Schweden (SUTTON et al., 2013), aber auch in anderen Teilen der Welt, wie Asien (NAKAMURA et al., 2004; KUMAR & NANDI, 2010b; NANDI et al., 2010; GENG et al., 2015; CHIANG et al., 2016; NOOKALA et al., 2016; WANG et al., 2016; LIN et al., 2017; HOANG et al., 2019), Südamerika (CALDERON et al., 2009; GALLO CALDÉRON et al., 2012; PÉREZ et al., 2012; PINTO et al., 2012; PUENTES et al., 2012; FONTANA et al., 2013; MONTEIRO et al., 2016; DE OLIVEIRA et al., 2019), Nordafrika (TOUIHRI et al., 2009; AMRANI et al., 2016), den Vereinigten Staaten von Amerika (USA) (HONG et al., 2007; KAPIL

et al., 2007; MARKOVICH et al., 2012) und seit Kurzem auch in Kanada (GAGNON et al., 2016) und Australien (WOOLFORD et al., 2017) beschrieben ist. Die neuen antigenen Varianten sind sich untereinander so ähnlich (TRUYEN, 2006), dass die Schutzwirkung durch CPV-2 oder CPV-2b-Vakzinen auch gegen die anderen CPV-Varianten als ausreichend erachtet wird (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2019). Trotzdem kann eine gewisse Beeinträchtigung der Wirksamkeit der Impfung nicht ausgeschlossen werden und die entstehenden Kreuzprotektivitäten je nach Virusvariante unterschiedlich sein (TRUYEN, 2006). So wurde mehrfach eine niedrigere neutralisierende Aktivität impfinduzierter Antikörper gegen andere CPV-Varianten detektiert (PRATELLI et al., 2001; CAVALLI et al., 2008; KANG et al., 2008; OHSHIMA et al., 2008), deren Relevanz im Feld jedoch nicht geklärt ist (TRUYEN, 2006). Zudem finden sich in der Literatur einige Berichte von klinischen Erkrankungen bei geimpften Hunden unterschiedlichen Alters durch neue Feldstämme, insbesondere durch Stämme der jüngsten antigenen Variante CPV-2c, aber auch durch neue Isolate von CPV-2a (CAVALLI et al., 2001; DECARO et al., 2008; DECARO et al., 2009; SUTTON et al., 2013; MITTAL et al., 2014; MIRANDA & THOMPSON, 2016a; DE OLIVEIRA et al., 2019). Dagegen konnte in verschiedenen Challengestudien eine Schutzwirkung verschiedener kommerzieller Impfstoffe gegen andere Virusvarianten, einschließlich CPV-2c, durchaus demonstriert werden (APPEL & CARMICHAEL, 1987; GREENWOOD et al., 1995; YULE et al., 1997; LARSON & SCHULTZ, 2008; SPIBEY et al., 2008; SIEDEK et al., 2011; GLOVER et al., 2012; VON REITZENSTEIN et al., 2012; WILSON et al., 2013; WILSON et al., 2014a). HERNÁNDEZ-BLANCO und CATALA-LÓPEZ, die einen detaillierten Vergleich mehrerer dieser Studien vorgenommen hatten, kamen zu dem Schluss, dass auf Basis der aktuellen Datenlage keine abschließende Beurteilung möglich sei. Als Kritikpunkte wurden v. a. der kleine Probenumfang, ein kurzes Follow-up sowie methodische Limitationen in den Studien angeführt (HERNÁNDEZ-BLANCO & CATALA-LÓPEZ, 2015). Ebenso äußerten DECARO et al. Kritik am Studiendesign von Challengeexperimenten, die in einem kurzen zeitlichen Abstand zur Impfung bei maximal ausgebildeten Antikörpertitern durchgeführt wurden (DECARO et al., 2009). Folglich bleibt eine Unsicherheit (TRUYEN, 2006; KAPIL et al., 2007; DECARO et al., 2008; KAPIL & COOPER, 2008; LAMM & REZABEK, 2008; DECARO et al., 2009; PATEL & HELDENS, 2009; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; LING et al., 2012; NANDI et al., 2013;

HERNÁNDEZ-BLANCO & CATALA-LÓPEZ, 2015), ob tatsächlich eine komplette Kreuzprotektivität der etablierten Impfstoffe gegen alle gegenwärtig in der Umwelt zirkulierenden CPV-Feldstämme besteht. Dabei sollten Impfstoffe für einen optimalen Immunschutz grundsätzlich immer die neuesten antigenen Varianten enthalten (PATEL & HELDENS, 2009), vorausgesetzt diese weisen eine ebenso gute Immunogenität auf wie die etablierten Impfstämme (TRUYEN, 2006). Ein minimaler Konsens besteht zumindest darin, die Genetik der zirkulierenden CPV-Varianten aufgrund der enormen Mutationsfähigkeit des Erregers (DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; GREENE & DECARO, 2012; NANDI et al., 2013) kontinuierlich zu überwachen, um die Impfstoffe, falls notwendig, an die aktuelle Situation anpassen zu können (JOÃO VIEIRA et al., 2008; KAPIL & COOPER, 2008; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; MIRANDA & THOMPSON, 2016a; WANG et al., 2016). Welche Konsequenzen eine mangelnde Stammanpassung von Impfstoffen haben kann, wird am Beispiel von FCV deutlich. Hier konnten etablierte Impfstämme speziell bei adulten Katzen keine ausreichende Immunität gegen verschiedene neue FCV-Stämme (FOLEY et al., 2006) induzieren (HURLEY & SYKES, 2003), was z. B. Epidemien der hochkontagiösen „virulent systemic feline calicivirus disease“ in den USA (PEDERSEN et al., 2000; SCHORR-EVANS et al., 2003; HURLEY et al., 2004; PESAVENTO et al., 2004), UK (COYNE et al., 2006) und auch Deutschland (SCHULZ et al., 2007; SCHULZ et al., 2011) zur Folge hatte. Auch bei CDV sind neue Stämme beschrieben, die sich genetisch von den bekannten Impfstämmen unterscheiden (PARDO et al., 2005). Zur Impfung gegen das canine Influenzavirus stehen in den USA inaktivierte Impfstoffe gegen H3N8 und H3N2 zur Verfügung; da es keinen Hinweis auf Kreuzprotektivität gibt, wird empfohlen, Hunde nach entsprechender Nutzen-Risiko-Abwägung entsprechend der Non-Core-Klassifizierung mit beiden Vakzinen zu impfen (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017). Zumal sich die Eigenschaften der zirkulierenden Influenzaviren schnell verändern, wird in der Humanmedizin die Stammzusammensetzung der Influenza-Impfstoffe jedes Jahr an die aktuelle epidemiologische Situation angepasst (SCHWANIG & LÖWER, 2005; PAUL-EHRLICH-INSTITUT (BUNDESINSTITUT FÜR IMPFSTOFFE UND BIOMEDIZINISCHE ARZNEIMITTEL), 2019a). Ein solches Vorgehen ist leider für die Tiermedizin unrealistisch. Abgesehen von Vakzinen, die nicht ausreichend immunogene oder veraltete Impfstämme mit ungenügender Kreuzprotektivität enthalten, ist auch eine virale Konkurrenz innerhalb

multivalenter MLV, die verschiedene Stämme desselben Virus enthalten, beschrieben (VIDOR, 2007b). Eine Studie zur Produktsicherheit und Immunogenität humaner Dengue-Fieber-Virus- (DENV) MLV berichtete unterschiedliche Antikörperantworten auf vier monovalente Impfstoffe, die jeweils nur einen Serotyp des DENV enthielten, und einen tetravalenten MLV, der die Serotypen DENV-1 bis DENV-4 inkludierte. Während durch die monovalenten Impfstoffe eine gute humorale Immunität gegen die jeweils im Impfstoff enthaltenen Serotypen erzielt wurde, war bei Anwendung der tetravalenten Vakzine ein Serotyp den drei anderen in der Replikation überlegen, wodurch die Antikörperantworten gegen diese Subtypen verringert wurden (KANESATHASAN et al., 2001). Für die in der Tiermedizin erhältlichen Impfstoffe (z. B. multivalente Impfstoffe mit verschiedenen FCV- oder Leptospirenstämmen) ist durch Challengeexperimente belegt, dass jede Komponente des Impfstoffs in der Lage ist, eine protektive Immunität zu induzieren. Somit ist auch bei Kombinationsimpfstoffen von einer guten Immunogenität auszugehen (DAY et al., 2016).

#### **2.3.2.2.2. Transport, Lagerung und Handling**

Als sogenannte Postmanufacture-Faktoren können ebenso Fehler beim Transport und bei der Lagerung, z. B. eine Unterbrechung der Kühlkette (SPIESS & HEININGER, 2005; DAY & SCHULTZ, 2014m; STIKO VET AM FLI, 2018), die Immunogenität eines Impfstoffs beeinträchtigen. Ebenso kann sich ein fehlerhaftes Handling, z. B. die Verwendung von Alkohol oder Desinfektionsmitteln zur Säuberung der Injektionsstelle (POVEY & CARMAN, 1997h; SPIESS & HEININGER, 2005; DAY & SCHULTZ, 2014m; DAY et al., 2016; FORD et al., 2017), nachteilig auf den Impferfolg auswirken. In diesem Zusammenhang gibt es substantielle Unterschiede zwischen Vakzinen aus inaktiviertem Virus und MLV (siehe auch 2.1.3., 2.1.3.1. und 2.1.3.2.). Impfstoffe aus inaktiviertem Virus liegen meist als flüssige Formulierung vor; sie sollten nicht eingefroren und vor der Anwendung ausreichend aufgeschüttelt und homogenisiert werden. Insbesondere Adsorbatimpfstoffe, bei denen das Antigen an ein Adsorbtionsmittel gebunden vorliegt, sind dafür bekannt, dass Teile des Impfstoffs an der Ampullenwand haften bleiben können. Dagegen sind lebende Antigene in MLV besonders empfindlich gegenüber Hitze und UV-Strahlung; selbst stabilere lyophilisierte Produkte können durch die Einwirkung von starker Hitze oder direktem Sonnenlicht inaktiviert

werden. MLV sollten deshalb lichtgeschützt bei einer optimalen Temperatur zwischen 2 bis 8 °C gelagert und erst kurz vor der Verwendung mit der korrekten Menge der dafür vorgesehenen Flüssigkeit rekonstituiert werden. Das Haltbarkeitsdatum auf dem Etikett gibt den Zeitraum für eine sichere, effektive Anwendung vor (POVEY & CARMAN, 1997h; SPIESS & HEININGER, 2005; DAY & SCHULTZ, 2014m; STIKO VET AM FLI, 2018; TIZARD, 2018i).

#### **2.3.2.2.3. Impfstoffverabreichung**

Wenngleich für manche Impfstoffe eine gesteigerte Wirksamkeit und eine längere Immunitätsdauer bei einer alternativen Verabreichung beschrieben sind (ROTH & SPICKLER, 2010; GREENE & LEVY, 2012), z. B. für intramuskulär applizierte Tollwut-MLV (SIKES et al., 1971; COYNE et al., 2001), ist zu beachten, dass nur die im Beipackzettel angeführte Dosis und Applikationsform während des Zulassungsverfahrens auf Sicherheit und Wirksamkeit getestet wurden (HUSTEAD, 2001; DAY & SCHULTZ, 2014m; STIKO VET AM FLI, 2018; TIZARD, 2018i). So kann eine intramuskuläre Injektion beispielsweise mit einem höheren Risiko für Typ-I-Hypersensitivitätsreaktionen verbunden sein (GREENE & LEVY, 2012). Variablen in der Injektionstechnik, z. B. Nadelgröße, Nadellänge, Injektionsgeschwindigkeit oder Injektionsstelle, können ebenfalls zu unterschiedlichen Impfergebnissen beitragen (VIDOR, 2007b). Dabei gilt speziell die Injektion in subkutanes Fettgewebe als nachteilhaft (POVEY & CARMAN, 1997h; SPIESS & HEININGER, 2005), da hier von einer reduzierten Resorption der Impfantigene auszugehen ist (POVEY & CARMAN, 1997c; SIEGRIST, 2007b). Aus diesem Grund besteht in der Humanmedizin ein großes Interesse, die intramuskuläre Injektionstechnik weiter zu verbessern und dabei nicht nur geschlechterspezifische Unterschiede in der Fettverteilung, sondern auch Übergewicht zu berücksichtigen (ZUCKERMAN, 2000; ZAYBAK et al., 2007; MARSHALL et al., 2013; LARKIN et al., 2018). Bei Hunden und Katzen gibt es hierzu bislang nur wenige Daten. Eine aktuelle Studie untersuchte den Effekt unterschiedlicher Injektionsstellen auf die Immunantwort von Ratten und Rottweilerwelpen. Der Impfstoff wurde jeweils an verschiedenen Körperstellen subkutan injiziert und induzierte bei beiden Spezies nach Applikation am, zwischen Schwanzwurzel und Anus befindlichen, Houhai-Akupunkturpunkt die höchsten Antikörperantworten. Bei Ratten, die am Houhai-Akupunkturpunkt geimpft worden waren, wurde zusätzlich eine höhere Con-A- und

lipopolysaccharidinduzierte Lymphozytenproliferation sowie eine höhere messenger-Ribonukleinsäure-Expression verschiedener Zytokine gemessen als bei Ratten, die an anderen Körperstellen, z. B. Kniekehle oder Rücken, geimpft worden waren. Die Autoren postulierten, dass diese bisher unübliche Injektionsstelle im direkten Vergleich zur subkutanen Impfung im Schulter- oder Nackenbereich die Immunantwort von Hunden auf eine Impfung positiv beeinflussen könne (JIN et al., 2019).

Weiter ist für eine sichere und effektive Anwendung von jeglichen Mischungen abzuraten, die nicht ausdrücklich in den Herstellerangaben aufgeführt sind (POVEY & CARMAN, 1997h; VIDOR, 2007b). Sofern nicht explizit ausgewiesen, dürfen MLV und Impfstoffe aus inaktiviertem Virus nicht gemischt werden, da dies eine Inaktivierung des attenuierten Impfvirus durch Konservierungsstoffe, wie Thiomersal-Adjuvantien, oder andere physikochemische Eigenschaften der inaktivierten Fraktion zur Folge haben kann. Ebenso kann eine Mischung verschiedener inaktivierter Impfstoffe, die unterschiedliche Adjuvantien beinhalten, in einer verminderten Wirksamkeit resultieren (POVEY & CARMAN, 1997f; VIDOR, 2007b).

#### **2.3.2.2.4. Impfschema**

Auch die Zahl der Impfdosen und das Dosisintervall können die Effektivität einer Impfung beeinflussen (VIDOR, 2007b; ROTH & SPICKLER, 2010). Eine Studie, in der die Konzentration von Tollwutantikörpern in mehr als 25.000 Serumproben von Hunden und Katzen gemessen wurde, kam zu dem Ergebnis, dass Hunde mit mehrfach dokumentierten Impfungen häufiger protektive Titer aufweisen; dieser Effekt war jedoch bei Katzen nicht vorhanden (CLIQUET et al., 2003). Wiederholte Nachimpfungen konnten auch die Zahl der Reagenten auf einen schwach immunogenen CDV-Impfstoff deutlich verbessern, von nur 39 % nach einer einmaligen Applikation auf 78 % nach einer viermaligen Applikation (RIKULA et al., 2000).

Bei zu kurzem zeitlichem Abstand zwischen der Applikation von MLV (< zehn bis zwölf Tage) ist allerdings eine „Sperrwirkung“ auf die nachfolgende Impfung möglich, die u. a. auf die Produktion von Interferonen aus den Zellen, in denen Impfvirus repliziert, zurückzuführen ist (GREENE & LEVY, 2012; FORD et al., 2017). Daher wird auch im Rahmen Grundimmunisierung von Welpen meist zu



einem Impfabstand von drei bis vier Wochen geraten; bei besonders hohem Infektionsdruck kann auch ein Zwei-Wochen-Intervall indiziert sein (GREENE & LEVY, 2012; DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2019). Ebenso kann sich die zeitgleiche Verabreichung zweier attenuierter Virusimpfstoffe, die um das gleiche Replikationsgewebe konkurrieren, negativ auf das Impfergebnis auswirken (VIDOR, 2007b). Dieser Effekt ist beispielsweise bei der Erstimpfung von Kindern gegen Rotaviren beschrieben, welche für alle Säuglinge unter sechs Monaten empfohlen und als klassische Schluckimpfung mit einem oralen Lebendimpfstoff durchgeführt wird (ROBERT-KOCH-INSTITUT, 2013). MIGASENA et al. konnten nachweisen, dass die Koadministration einer oralen Polio-Lebendvakzine zu einem geringeren Rotaviren-Impferfolg führte, als wenn zeitgleich ein parenteraler Polio-Totimpfstoff verabreicht wurde. Auch die Antikörperantwort gegen Polyvirus-Typ-1 war bei Kindern, die die zwei oralen MLV zur selben Zeit erhalten hatten, reduziert (MIGASENA et al., 1995). Während bei der Anwendung von MLV meist eine einzige Applikation genügt, um eine adäquate Immunantwort auf ein neues Pathogen zu stimulieren, sind bei Verwendung von Impfstoffen aus inaktiviertem Virus in der Regel zwei Impfdosen im Abstand von zwei bis vier Wochen nötig (GREENE & LEVY, 2012).

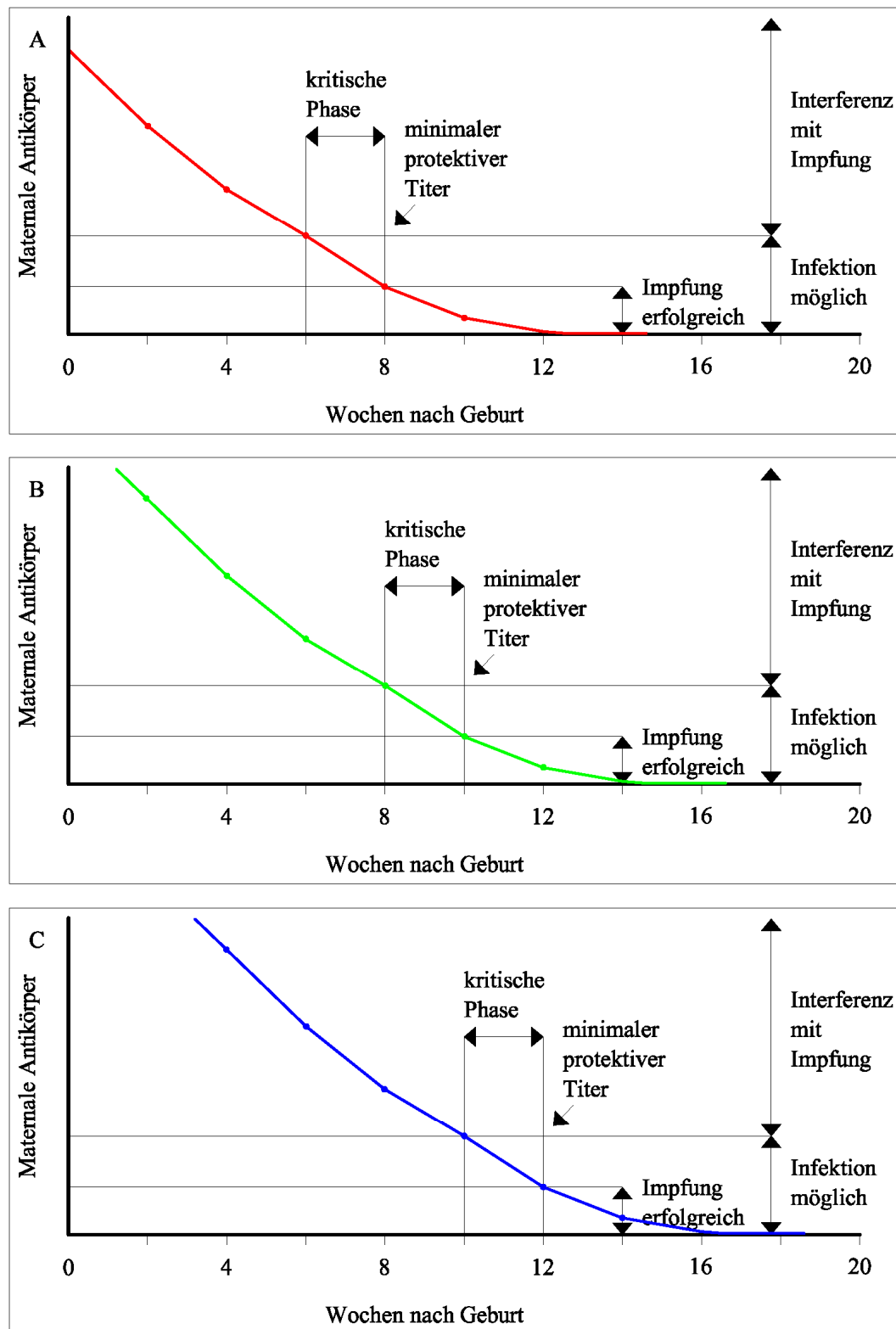
Wird kein ausreichend langer Abstand zwischen der Verabreichung von Antikörperpräparaten, wie Immunsereen oder Immunglobulinzubereitungen, und einer Impfung eingehalten, kann es aufgrund der Inaktivierung von Impfantigen durch zirkulierende spezifische Antikörper ebenfalls zu einem Impfversagen kommen (GREENE & LEVY, 2012; DAY & SCHULTZ, 2014m; SYKES & PAPICH, 2014; TIZARD, 2018h). In der Humanmedizin ist dieser Effekt auch nach Bluttransfusionen beschrieben (SPIESS & HEININGER, 2005). Impfstoffe, die lebende bakterielle Erreger enthalten, z. B. *Bordetella-bronchiseptica*-Vakzinen, dürfen niemals zeitgleich mit Antibiotika angewendet werden. Diese können eine Impfung mit lebenden, attenuierten Bakterien unwirksam machen, indem sie die Impferreger abtöten oder zumindest deren, für die Immunantwort essentielle, Replikation verhindern (EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD, 2015a).

Weiterhin können MDA mit der Immunantwort von Welpen auf eine Impfung gegen CPV interferieren (ACKERMANN & GRUSCHKAU, 1981; GOODING & ROBINSON, 1982; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982b; CARMICHAEL,

1983; MURISIER et al., 1983; CARMICHAEL et al., 1984; WALLACE & MCMILLEN, 1985; THOMPSON et al., 1988; IIDA et al., 1990; RIMMELZWAAN et al., 1991; BUONAVOGLIA et al., 1992; O'BRIEN, 1994; MOCKETT & STAHL, 1995; SCHUNCK & TRUYEN, 1995; LARSON & SCHULTZ, 1997; MCCAWE et al., 1997; POVEY & CARMAN, 1997d; RIMMELZWAAN & OSTERHAUS, 1997; SMITH-CARR et al., 1997; CHAPPUIS, 1998; MARTINOD, 1999; ROTH, 1999; FRIEDRICH & TRUYEN, 2000; PRATELLI et al., 2000; DECARO et al., 2005a; DAY, 2007b; PATEL & HELDENS, 2009; NANDI & KUMAR, 2010; SYKES, 2014a; WILSON et al., 2014c) (siehe auch 1.1.1.). Sie gelten als wichtigster und häufigster Grund für ein Impfversagen (POLLOCK & CARMICHAEL, 1983b; O'BRIEN et al., 1986; SMITH & JOHNSON, 1986; OLSON et al., 1988; RIMMELZWAAN et al., 1990; POLLOCK & COYNE, 1993; WANER et al., 1996; CARMICHAEL, 1997; POVEY & CARMAN, 1997d; APPEL, 1999; CARMICHAEL, 1999; FORD, 2001a; GREENE et al., 2001; WANER, 2002; MARTELLA et al., 2005; KANELLOS et al., 2006a; NANDI & KUMAR, 2010; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; LING et al., 2012; LUND et al., 2012; NANDI et al., 2013; SYKES, 2014a; HERNÁNDEZ-BLANCO & CATALA-LÓPEZ, 2015; DAY et al., 2016; ALTMAN et al., 2017; PARRISH, 2017). Aus immunologischer Sicht sollte eine Impfung idealerweise erst erfolgen, wenn die MDA nahezu vollständig abgebaut sind (BARRATT-BOYES & GOLDE, 2017). Jede Verzögerung der Impfung ist jedoch mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko für die Welpen verbunden, was diesem Ansatz klar entgegensteht (POVEY & CARMAN, 1997f). Da inaktiviertes Virus oder auch attenuiertes Virus in MLV grundsätzlich weniger immunogen ist als virulentes CPV-Feldvirus, kann eine Impfung die passive Immunität weniger effektiv durchbrechen als eine Infektion (CARMICHAEL, 1983; POLLOCK & COYNE, 1993; LARSON & SCHULTZ, 1996b; GREENE et al., 2001). Zudem wird das Impfvirus in aller Regel parenteral appliziert und nicht wie pathogenes Feldvirus oronasal aufgenommen; dies entspricht nicht der natürlichen Affinität des Virus für schnellteilende Zellen und geht mit einer reduzierten Replikationsrate einher (GREENE & LEVY, 2012). Besonders gefährdet sind also Welpen, deren MDA soweit abgebaut sind, dass sie nicht mehr vor einer Infektion mit Feldvirus schützen, aber noch in solcher Konzentration vorhanden sind, dass sie die Impfantigene inaktivieren (CARMICHAEL, 1989; POVEY & CARMAN, 1997d; RIMMELZWAAN &

OSTERHAUS, 1997; SMITH-CARR et al., 1997; APPEL, 1999; SYKES, 2014a; SYKES, 2014b). Dieser risikoreiche und zugleich individuell sehr variable Zeitraum, in dem weder die maternale noch die impfinduzierte Immunität eine effektive Protektion vermitteln können, wurde früher als sogenannte „immunologische Lücke“ bezeichnet; heute spricht man eher von der „kritischen Phase“ (CARMICHAEL, 1999; PASTORET, 2007; STIKO VET AM FLI, 2019).

Welpen werden bereits mit einem Immunsystem geboren, das auf externe Stimuli ansprechen kann (TOMAN et al., 2002), auch wenn dieses noch nicht voll ausgereift ist und die Immunantwort von Welpen eine stärkere Th2-Gewichtung aufweist (SIEGRIST, 2001; MOREIN et al., 2002; MOREIN et al., 2007; SIEGRIST, 2007a; DAY & SCHULTZ, 2014i). Der Zeitpunkt, ab dem ein Welp eine adäquate endogene Immunantwort auf eine Impfung ausbilden kann, wird demnach nicht so sehr vom Alter, sondern vielmehr von der Menge der mit dem Kolostrum aufgenommenen spezifischen Antikörper bestimmt (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982b; CARMICHAEL, 1999; DAY, 2007a; VILA NOVA et al., 2018) (siehe auch 1.1.1.). Während Welpen, die geringe Mengen an MDA aufgenommen haben, bereits früh auf eine Impfung ansprechen können, weisen andere Welpen MDA in hohen Konzentrationen auf, die weit über die zwölfte Lebenswoche hinaus mit der Impfung interferieren können (POVEY & CARMAN, 1997d; FRIEDRICH & TRUYEN, 2000; PARRISH, 2017).



**Abbildung 4: Kritische Phase bei der Impfung gegen canine Parvovirose (in Anlehnung an DAY & SCHULTZ, 2014k)**

Die MDA werden mit der Zeit abgebaut. Danach ist es dem Welpen möglich, seine eigene aktive Immunantwort auszubilden. Unter der kritischen Phase versteht man den Zeitraum, in dem die MDA soweit abgebaut sind, dass sie keinen vollständigen Schutz mehr vermitteln können, aber noch in einem Ausmaß vorhanden sind, dass sie die Fähigkeit des Welpen blockieren, eine Immunantwort

auf die Impfung zu entwickeln. In den drei Abbildungen wird die kritische Phase exemplarisch für drei verschiedene Welpen während der sechsten und achten (A), der achten und zehnten (B) sowie der zehnten und zwölften (C) Lebenswoche dargestellt.

Sind keine oder nur geringe Mengen an MDA vorhanden, können Welpen bereits ab der zweiten Lebenswoche auf ein Antigen, wie z. B. eine CPV, reagieren (TOMAN et al., 2002). Es konnte sogar gezeigt werden, dass Welpen ohne MDA, die am ersten Lebenstag mit attenuiertem CPV geimpft worden waren, innerhalb von 21 bis 91 Tagen eine ähnlich hohe humorale Immunantwort entwickelten wie ältere Welpen nach der Impfung (CHAPPUIS, 1998). Sofern keine MDA die Impfung stören, können MLV innerhalb von wenigen Tagen einen wirksamen Schutz vermitteln (SCHULTZ & LARSON, 1996; GREENE et al., 2001; SYKES, 2014a; DAY et al., 2016). So konnte beispielsweise eine einzige Dosis MLV in der sechsten Lebenswoche Antikörper gegen CPV induzieren und Welpen vor einer nachfolgenden Infektion schützen (WILSON et al., 2014b). Dagegen entwickeln Welpen mit detektierbaren MDA häufig keine oder nur eine ungenügende Immunantwort auf die Impfung (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982b; SCHUNCK & TRUYEN, 1995). In frühen Studien wurde eine Interferenz von MDA mit der aktiven Immunisierung über einen Zeitraum zwischen 40 und 69 Tagen nach der Geburt nachgewiesen (IIDA et al., 1990). GOODING und ROBINSON konnten demonstrieren, dass MDA-Titer  $> 20$  eine Immunisierung mit einem inaktivierten Impfstoff vollständig blockieren, aber auch eine „signifikante Minorität“ der Welpen (49 %) selbst bei MDA-Titern  $< 20$  nicht adäquat auf die Impfung anspricht (GOODING & ROBINSON, 1982). Und während CARMICHAEL et al. bei über 95 % der Welpen mit MDA-Titern  $< 10$  eine Immunisierung mit MLV gelang, konnten bei MDA-Titern von etwa 20 nur mehr 50 % der Welpen erfolgreich geimpft werden (CARMICHAEL et al., 1983). Umgekehrt konnte kein Welpe mit einem MDA-Titer  $\geq 80$  in frühen experimentellen Studien jemals aktiv immunisiert werden (CARMICHAEL et al., 1983).

Neben dem MDA-Titer des individuellen Welpen stellt die Art der Vakzine eine weitere Variable bei der Grundimmunisierung gegen CPV dar. Bei konventionellen Impfstoffen ist davon auszugehen, dass eine aktive Immunantwort erst dann induziert werden kann, wenn die passiven Antikörper unter die Nachweisgrenze abgefallen sind. „Potenzierte“ MLV mit höherem Virustiter und weniger

attenuierten, immunogeneren Virusstämmen können die Dauer der kritischen Phase reduzieren (LARSON & SCHULTZ, 1996b; HOARE et al., 1997; LARSON & SCHULTZ, 1997; GREENE & LEVY, 2012; DAY et al., 2016). In der Humanmedizin gelten höhere Mengen von Impfantigen und ein Impfschema mit mehreren Einzeldosen als probate Methoden, um eine Interferenz mit MDA bei der Impfung von Säuglingen mit inaktivierten Hepatitis-A-Vakzinen zu umgehen (VIDOR, 2007a). Dagegen haben sich Impfstoffe aus inaktiviertem Virus im direkten Vergleich zu MLV bei der Erstimpfung von Katzenwelpen mit niedrigen MDA-Titern als nur wenig effektiv erwiesen (DIGANGI et al., 2012). Weiter gibt es Hinweise, dass CPV-2b-Vakzinen die maternale Immunität besser durchbrechen können als Impfstoffe auf Basis des ursprünglichen CPV-2 (PRATELLI et al., 2000; PRATELLI et al., 2001; MARTELLA et al., 2005; BÖHM, 2009). Dieser Effekt war jedoch nicht konstant in allen Studien nachweisbar (ALTMAN et al., 2017). Die Hoffnung, die maternale Immunität in Zukunft effektiver überwinden zu können, liegt v. a. auf der Entwicklung gentechnisch modifizierter Impfstoffe, wie DNA-Vakzinen oder rekombinanten Vektorimpfstoffen (CHALMERS, 2006; DAY, 2007a), die sich bereits bei der Impfung von Welpen gegen CDV (PARDO et al., 2007), Kälbern gegen das bovine respiratorische Synzytialvirus (HAMERS et al., 2007) oder Hühnerküken gegen infektiöse Bursitis (BUBLLOT et al., 2007) als erfolgreich erwiesen haben. Auch die Applikationsart der Impfstoffe könnte eine Rolle spielen. So konnten durch eine intranasale Impfstoffapplikation bereits MDA-Titer von 160 bis 320 überwunden werden. Dies könnte durch die aktive Replikation des Impfantigens im lymphatischen Gewebe des Oropharynx unter Umgehung hoher MDA-Titer im Serum ermöglicht worden sein (POVEY & CARMAN, 1997d, 1997c; MARTELLA et al., 2005).

Es besteht die Möglichkeit, den optimalen Impfzeitpunkt für jeden einzelnen Welpen anhand einer exakten Titerbestimmung im SNT oder HAH zu berechnen. In der Praxis ist dieser Ansatz jedoch aufgrund mangelnder Zweckmäßigkeit von untergeordneter Bedeutung. Anstelle dessen wird ein empirisches Impfschema mit seriellen Impfungen im Abstand von etwa drei bis vier Wochen angewendet (STIKO VET AM FLI, 2019). Diese Strategie aus frühem Priming und nachfolgenden Boosterimpfungen gilt auch in der Humanmedizin als geeigneter Ansatz, um einen guten Immunschutz in der frühen Lebensphase zu erzielen; nicht zuletzt in Hinblick auf die Ausbildung eines guten immunologischen Gedächtnisses

für die spätere Lebensphase (SIEGRIST, 2007a). Dabei können wiederholte Impfungen durch die Formation und anschließende Clearance von Immunkomplexen, den Abbau von MDA sogar vorantreiben (GREENE & LEVY, 2012). Im Allgemeinen ist davon auszugehen, dass MDA in der 16. bis 20. Lebenswoche soweit abgebaut sind, dass eine Impfung bei den meisten Welpen erfolgreich ist (SYKES, 2014b). Eine australische Untersuchung, die insgesamt 594 Fälle von Impfversagen bei der Grundimmunisierung gegen CPV in Zusammenhang mit verschiedenen Impfschemata und Vakzinen analysierte, zeigte ein klares Ergebnis: Je älter der Welpen bei der letzten CPV-Impfung war, desto geringer war das Risiko eines Impfversagens. Nach Auffassung der Autoren sollte die Erstimpfung deshalb keinesfalls vor der 16. Lebenswoche abgeschlossen werden, ungeachtet davon, ob der jeweilige Impfstoff mit einem 10- oder 12-Wochen-Protokoll vermarktet wird (ALTMAN et al., 2017). Auch eine frühere Studie, die die Effektivität verschiedener Impfprotokolle untersuchte, kam zu dem Ergebnis, dass die Grundimmunisierung gegen CPV bereits in der sechsten Lebenswoche beginnen und mindestens bis zur 15. oder 16. Lebenswoche fortgeführt werden sollte (FRIEDRICH & TRUYEN, 2000). Im Einklang dazu empfehlen Expertengruppen, je nach Gefährdungslage, z. T. sogar eine Verlängerung der Erstimpfungsserie bis zur 20. Lebenswoche (FORD et al., 2017). Dies wird aufgrund einer höheren Empfänglichkeit für canine Parvovirose mitunter auch für bestimmte Rassen, wie Dobermänner oder Rottweiler, angeraten (MARTINOD, 1999). Zusätzlich können Antikörpermessungen im Abstand von vier Wochen nach der letzten Erstimpfung Aufschluss über den Impferfolg geben (DAY et al., 2016). Ein früherer Abschluss der Grundimmunisierung durch eine vorgezogene Boosterimpfung, vier bis sechs Monate nach der Erstimpfung, kann die Phase eines suboptimalen Immunschutzes entscheidend verkürzen (POULET, 2007). Dieser Ansatz hat bereits Eingang in die Impfleitlinien der WSAVA gefunden, die den Abschluss der Grundimmunisierung im Alter zwischen 26 und 52 Wochen empfiehlt (DAY et al., 2016).

### **2.3.3. Ausscheidung von Impfvirus**

Die Reaktion des Immunsystems auf eine Impfung mit attenuiertem CPV ist qualitativ derjenigen nach einer Infektion mit Feldvirus gleichzusetzen (GREENE & DECARO, 2012). So ist bei der Anwendung von Lebendimpfstoffen neben der Induktion einer humoralen und zellulären Immunantwort auch eine zeitlich

limitierte Ausscheidung geringer Mengen an Impfvirus vorhanden (siehe auch 2.1.3. und 2.1.3.1.). Die Präsenz von Impfantigen im Kot stellt eine direkte Folge der aktiven Virusreplikation im lymphatischen Gewebe oder den Epithelzellen des Gastrointestinaltrakts dar (ungeachtet der unnatürlichen parenteralen Applikation des attenuierten Erregers), wodurch ab dem dritten bis vierten Tag nach der Impfung positive Reaktionen in direkten Nachweisverfahren auftreten können (POLLOCK & CARMICHAEL, 1983b; POLLOCK & COYNE, 1993; MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; PRITTIE, 2004; PATTERSON et al., 2007; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; GREENE & DECARO, 2012; LING et al., 2012; DECARO et al., 2014; SYKES, 2014a). In den meisten Fällen handelt es sich um ein transientes Ereignis ohne klinische Signifikanz; allerdings kann eine Immunisierung oder eine Boosterung der Immunität von Kontakttieren durch die ausgeschiedenen Impfviren einen potentiell positiven Nebeneffekt bedeuten (POVEY & CARMAN, 1997g; GREENE & LEVY, 2012). So entdeckten CARMICHAEL et al. bereits in ihren frühen Untersuchungen zur Immunantwort von Hunden auf CPV-MLV, dass eine Ausbreitung des Impfvirus auf ungeimpfte Kontrolltiere möglich ist (CARMICHAEL et al., 1981b) und dadurch z. T. ähnlich hohe Antikörpertiter ausgebildet werden wie bei geimpften Welpen (CARMICHAEL et al., 1984). Es wird postuliert, dass „infizierte“ Kontakttiere ebenfalls schwach positive Reaktionen in direkten Nachweisverfahren entwickeln können (GREENE et al., 2001). Dennoch sollte man nicht darauf vertrauen, dass die Menge an ausgeschiedenem Antigen für eine Immunisierung anderer Hunde zuverlässig ausreicht (SYKES, 2014b); speziell wenn der Nachweis der CPV-Impfvirusausscheidung mit sensibler PCR-Technik erfolgt ist, die Virus-DNA detektiert, was nicht notwendigerweise mit der Präsenz von infektiösem Virus gleichzusetzen ist (DECARO et al., 2005b; GREENE & DECARO, 2012). So ist eher davon auszugehen, dass bei einer fäkal-oralen Transmission zu wenig attenuiertes CPV das lymphatische Gewebe erreicht, um eine adäquate Immunantwort bei Kontakttieren auszulösen (GREENE & LEVY, 2012). Möglicherweise könnte die Impfvirusausscheidung bei einer Erstimpfung höher sein als bei späteren Impfungen; so ist es zumindest im Zusammenhang mit der Rotavirusimpfung beim Menschen beschrieben (PETITIONSAUSSCHUSS DES DEUTSCHEN BUNDESTAGES, 2014).

Aufgrund der Attenuierung des Erregers ist jedoch selbst bei einem theoretischen



Übertragungsrisiko nicht von einem ernsthaften Erkrankungsrisiko Dritter auszugehen (GREENE et al., 2001). Dennoch existieren Bedenken, dass eine Ausscheidung lebensfähiger Impfviren aufgrund der Residualvirulenz speziell für ungeschützte, immunsupprimierte Individuen oder andere empfängliche Spezies schwerwiegende Folgen haben könnte (POVEY & CARMAN, 1997g; ELLIS, 1999). In der Literatur finden sich nur wenige Belege, dass die Übertragung von Impfvirus eine ernsthafte Erkrankung bei empfänglichen Kontakttieren auslöste. So gibt es etwa den Fallbericht einer Labradorhündin, die drei Tage nach der Geburt eine Boosterimpfung mit einem multivalenten Lebendimpfstoff erhalten hatte; 18 Tage später entwickelten einige ihrer Welpen eine Enzephalitis, was auf das ausgeschiedene attenuierte CDV-Impfvirus zurückgeführt wurde (MCCANDLISH et al., 1992). Insbesondere die Induktion eines postvakzinalen Carrier-Status gilt wegen des Potentials zur Virulenzreversion, der Fähigkeit zur Rekombination mit Feldstämmen, der Weiterverbreitung und des möglicherweise schädigenden Effekts einer Langzeitinfektion als unerwünscht (POVEY & CARMAN, 1997g). Im Fall von CPV ist ein solcher Carrier-Status nach der Impfung nicht beschrieben. Allerdings wurde, unabhängig von einer Impfung, bei einigen Hunde mit chronischem Durchfall die Ausscheidung kleiner Mengen CPV-DNA im Kot nachgewiesen. Die Signifikanz dieser Entdeckung ist bislang nicht geklärt. Wenngleich eine persistierende Infektion denkbar ist, könnte es sich auch lediglich um eine intestinale Passage des Virus oder eine inzidentelle Feldvirusinfektion vor dem Beprobungszeitpunkt handeln (SCHMITZ et al., 2009). Eine weitere Studie verfolgte die Ausscheidung von CPV-DNA bei geimpften Hündinnen über die gesamte Zeit der Trächtigkeit bis zum Ende der Laktation. Die Hündinnen waren jährlich mit einer kommerziellen, multivalenten CPV-MLV geimpft worden. Während der Trächtigkeit wurde nur eine einzige positive Kotprobe oberhalb der Nachweisgrenze des PCR-Ansatzes detektiert. Während der Laktation konnte jedoch bei 64 % der laktierenden Hündinnen eine Ausscheidung von CPV-DNA nachgewiesen werden, wobei die Virusmengen zwischen dem 14. und 16. Tag post partum deutlich höher waren als während der frühen Laktation. Parallel dazu stieg auch der Anteil von Welpen, bei denen CPV-DNA (in Konzentrationen  $> 5 \times 10^8$  Kopien/g Kot) gefunden wurden, zwischen dem zehnten und 16. Tag post partum von 2 auf bis zu 76 % pro Wurf an. Trotzdem entwickelten nur 14 % der Welpen Symptome einer caninen Parvovirose und die Mortalitätsrate war mit 3 % (4/134) gering. In 28 % der Fälle schieden die Mutterhündinnen CPV-DNA bereits vor

ihren Welpen aus. Die Autoren schlussfolgerten, dass Hündinnen zur Kontamination der Umgebung beitragen und eine potentielle Infektionsquelle für ihre Welpen darstellen; die Persistenz der CPV-Ausscheidung (zwischen dem Ende der Laktation und der nächsten Geburt) müsse jedoch noch weiter untersucht werden (BROUSSOU et al., 2016).

Die größte praktische Relevanz der Ausscheidung von CPV-Impfvirus wird der Interferenz mit diagnostischen Tests beigemessen, speziell bei Welpen, die zeitgleich mit der Grundimmunisierung die höchste Empfänglichkeit für eine Infektion mit CPV-Feldvirus aufweisen (DECARO et al., 2007b; LING et al., 2012). Dabei ist eine schnelle, sichere Diagnose einer Parvovirose essentiell, um zeitnah geeignete Isolationsmaßnahmen zu ergreifen und intensive therapeutische Maßnahmen einzuleiten (DESARIO et al., 2005; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; PROKSCH & HARTMANN, 2015). Angesichts der Präsenz von Impfantigen kann dies jedoch eine Herausforderung darstellen. Neben der Verfügbarkeit verschiedener immunologischer POCT-Produkte mit insgesamt guter Spezifität, aber eingeschränkter Sensitivität (MOHAN et al., 1993; ESFANDIARI & KLINGEBORN, 2000; SCHMITZ et al., 2009; DECARO et al., 2010; DECARO et al., 2013), gilt die quantitative Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR)) (DECARO et al., 2005d) v. a. aufgrund ihrer hohen Sensitivität und Spezifität derzeit als Goldstandard zur Diagnose einer CPV-Infektion (DESARIO et al., 2005; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012). Molekulare Nachweisverfahren auf Basis verschiedener PCR-Techniken (z. B. konventionelle PCR, nested PCR, qPCR, SYBR-Green-basierte qPCR) sind in der Lage, selbst geringe Mengen fäkaler CPV-DNA zu detektieren (MOCHIZUKI et al., 1993; HIRASAWA et al., 1994; SCHUNCK et al., 1995; DECARO et al., 2005d; KUMAR & NANDI, 2010a; KUMAR et al., 2010; KUMAR et al., 2011; KAUR et al., 2014). Jedoch können sie nicht ohne zusätzliche Verfahren zwischen Impf- und Feldvirus unterscheiden (PROKSCH & HARTMANN, 2015). Zur Diagnosestellung einer Parvovirose in der postvakzinalen Phase wird daher meist die Kombination aus positiver PCR und klinischer Präsentation einschließlich typischer Laborveränderungen verwendet (PROKSCH & HARTMANN, 2015; PROKSCH et al., 2015; GERLACH et al., 2017). Falsch-negative Ergebnisse im POCT bei Hunden mit caniner Parvovirose sind durch verschiedene Faktoren zu erklären. Abgesehen von der Möglichkeit,

dass Virusvarianten von CPV aufgrund von Mutationen nicht detektiert werden könnten, gilt v. a. eine geringe Virusmenge als ursächlich für einen mangelnden Nachweis (PROKSCH et al., 2015). Weiter ist bekannt, dass spezifische Antikörper etwa ab dem achten bis zehnten Tag nach der Infektion (DECARO et al., 2005b) in der Lage sind, Viruspartikel im Gastrointestinaltrakt zu sequestrieren (POLLOCK & COYNE, 1993; MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; PRITTIE, 2004; DESARIO et al., 2005; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; PROKSCH et al., 2015). Hunde mit Verdacht auf canine Parvovirose und negativem Ergebnis aus Schnelltests sollten immer durch PCR-basierte Nachweismethoden nachuntersucht werden (DECARO et al., 2010; PROKSCH et al., 2015). Während bei Inhouse-Tests und Virusisolationstechniken etwa drei bis 10

nach einer MLV-Impfung mit schwach-positiven Ergebnissen zu rechnen ist (POLLOCK & CARMICHAEL, 1983b; PRITTIE, 2004; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; GREENE & DECARO, 2012), ist derzeit noch nicht genau bekannt, über welchen Zeitraum positive Ergebnisse durch Impfvirus-DNA in der PCR auftreten können. Aufgrund der höheren Sensitivität sind längerfristige Interferenzen, wie auch Varianzen abhängig vom Design des jeweiligen PCR-Ansatzes, denkbar (SYKES, 2014b). Erste Daten zeigen, dass sowohl die konventionelle als auch die qPCR in der Lage ist, Impfvirus in Blut und Kot über einen Zeitraum von mindestens zwei Wochen nach einer Impfung mit einer CPV-MLV zu detektieren (VEIR et al., 2009; GREENE & DECARO, 2012; DECARO et al., 2014). Dabei sind jedoch deutliche Unterschiede für verschiedene Impfstoffe beschrieben. So war die Virusausscheidung bei Welpen nach CPV-2b-Impfung sehr viel kürzer (zwölf gegenüber durchschnittlich 19 Tage), trat aber zugleich in höherer Menge auf als nach CPV-2-Impfung. Dagegen war eine Impfvirus-Virämie nach CPV-2b-Impfung länger (22 gegenüber durchschnittlich 19 Tage); zudem war mehr Impfvirus im Blut nachweisbar als nach CPV-2-Impfung (DECARO et al., 2014).

Es gibt verschiedene Möglichkeiten zur Differenzierung zwischen CPV-Impfvirus und CPV-Feldvirus. So könnte die Quantifizierung der Virusmenge dabei helfen, die Bedeutung eines positiven PCR-Ergebnisses zu interpretieren (VEIR et al., 2009; DECARO et al., 2014; SYKES, 2014b). Allerdings erwies sich die Vermutung, dass eine hohe Kopienzahl in der Kot-PCR auf eine Infektion mit CPV-Feldvirus hindeutet, nicht als konstant zuverlässig (MEGGIOLARO et al., 2017).

In einer Untersuchung von PROKSCH et al. waren in 52 Kotproben von Hunden mit caniner Parvovirose häufig nur geringe Virusmengen nachweisbar; dies wurde durch die Entwicklung spezifischer Antikörper, die fäkales CPV-Antigen binden, erklärt (PROKSCH et al., 2015). In einer aktuellen Studie wurde im Kot von 40 adulten Katzen über einen Zeitraum von bis zu vier Wochen nach FPV-MLV-Impfung die Ausscheidung geringer Mengen an FPV-Feldvirus, CPV-Feldvirus wie auch FPV-Impfvirus nachgewiesen (BERGMANN et al., 2019). Eine detaillierte Sequenzanalyse des PCR-Produkts, v. a. bestimmter Nukleotidsequenzen innerhalb des viralen Strukturproteins-2 (VP2), kann in spezialisierten Laboren eine genauere Charakterisierung der Virusvariante ermöglichen (DESARIO et al., 2005; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012). Hierfür werden z. B. spezielle Primer (SENDA et al., 1995; PEREIRA et al., 2000; BUONAVOGLIA et al., 2001; MOCHIZUKI et al., 2008; KUMAR & NANDI, 2010b; SUTTON et al., 2013; KAUR et al., 2014; MIRANDA et al., 2016), minor-groove-binder- (MGB) Sonden (DECARO et al., 2005c; DECARO et al., 2006a; DECARO et al., 2006d) oder die Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus-Genotypisierung (HIRASAWA et al., 1995; SAKULWIRA et al., 2001; MOCHIZUKI et al., 2008; KUMAR & NANDI, 2010b; MIRANDA et al., 2016) eingesetzt. Trotzdem kann die Charakterisierung des Subtyps in manchen Fällen schwierig sein und für ein definitives Ergebnis mitunter mehr als eine Nachweistchnik erfordern (DECARO et al., 2005c; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; MIRANDA et al., 2016). Speziell die Virusvariante CPV-2b stellt dabei eine besondere Herausforderung dar, da sie sowohl als Feldvirus in der Umwelt zirkuliert, als auch als attenuierter Impfstamm in verschiedenen lizenzierten Lebendvakzinen enthalten ist (DECARO & BUONAVOGLIA, 2012). MGB-Analysen können aber eine Abgrenzung zu allen derzeit in Europa zugelassenen CPV-2b-Impfstämmen ermöglichen. Leider ist diese Vorgehensweise für klinische Fälle in der Praxis meist nicht anwendbar, da die Differenzierung nicht kommerziell verfügbar ist (DECARO et al., 2006d). Zur Impfung gegen manche Virusinfektionen beim Tier (z. B. gegen bovine Herpesvirus-1-Infektionen) stehen auch Markervakzinen oder besser „differentiating-infected-from-vaccinated-animals“- (DIVA) Vakzinen auf Basis strukturell veränderter Impfstämme zur Verfügung. Durch ein verändertes Antikörperprofil in speziellen Testsystemen sind diese in der Lage, zumindest Antikörper eindeutig einer Impfung oder einer Exposition zu Feldvirus zuzuordnen.

Zur Impfung von Hunden und Katzen sind bislang aber keine DIVA-Vakzinen verfügbar (VAN OIRSCHOT, 1997c; DAY & SCHULTZ, 2014m).

Entgegen den wiederkehrenden Befürchtungen einer Virulenzreversion konnte durch den Einsatz der oben genannten Techniken gezeigt werden, dass die meisten Fälle von CPV-ähnlicher Gastroenteritis nach einer Impfung mit CPV-Lebendvakzinen mit einer Ausscheidung von CPV-Feldvirus oder Infektionen mit anderen Pathogenen in Zusammenhang stehen (DECARO et al., 2007b; SUTTON et al., 2013; MIRANDA & THOMPSON, 2016a). Dabei kann Impfvirus auch in Kombination mit CPV-Feldstämmen und anderen Enteropathogenen ausgeschieden werden (DECARO et al., 2007b). Ebenso ist eine Rekombination aus CPV-Impfvirus und CPV-Feldvirus möglich (MOCHIZUKI et al., 2008). Zusammen mit sporadischen Nachweisen von CPV-2 oder CPV-2-ähnlichen Virusvarianten im Feld (YOON et al., 2009; ZHANG et al., 2010; ZHOU et al., 2017) geben diese Entdeckungen immer wieder Anlass zur Spekulation über eine Evolution neuer CPV-Subtypen aus attenuierten Impfstämmen (siehe auch 2.1.3.1.).



### III. PUBLIKATION I

#### **Prevalence of antibodies to canine parvovirus and reaction to vaccination in client-owned, healthy dogs**

**Monika Riedl<sup>1</sup>**

**Uwe Truyen<sup>2</sup>**, Prof. Dr. med. vet., Dr. med. vet. habil., Dipl. ECVPH

**Sven Reese<sup>3</sup>**, PD Dr. med. vet., Dr. med. vet. habil.

**Katrin Hartmann<sup>1</sup>**, Prof. Dr. med. vet., Dr. med. vet. habil., Dipl. ECVIM-CA

<sup>1</sup> Clinic of Small Animal Medicine, Ludwig-Maximilians-Universitaet of Munich, Munich, Germany

<sup>2</sup> Institute for Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig, Germany

<sup>3</sup> Institute for Anatomy, Histology and Embryology, Department of Veterinary Sciences, Ludwig-Maximilians-Universitaet of Munich, Munich, Germany

**Veterinary Record**, veröffentlicht

*Veterinary Record* 2015 Dec 12; 177(23):597; doi: 10.1136/vr.103271

# Paper

## Prevalence of antibodies to canine parvovirus and reaction to vaccination in client-owned, healthy dogs

M. Riedl, U. Truyen, S. Reese, K. Hartmann

**The purpose of this population-based cohort study was to assess current prevalence of antibodies to canine parvovirus (CPV) in adult, healthy dogs, including risk factors associated with lack of antibodies, and reaction to revaccination with a modified live vaccine (MLV). One hundred dogs routinely presented for vaccination were included in the study and vaccinated with a single dose of a combined MLV. Information was collected on signalment, origin, environment, vaccination history and side effects. Prevacination and postvaccination antibodies were detected by haemagglutination inhibition. Univariate analysis, followed by multivariate logistic regression, was used to investigate association between different variables and presence of antibodies as well as titre increase. Protective CPV antibodies were present in 86.0 per cent of dogs. Intervals of more than four years since the last vaccination and rare contacts with other dogs were determined as main risk factors for the absence of antibodies. An increase in titres only occurred in 17.0 per cent of dogs. Dogs without protective titres before vaccination or with bodyweight <10 kg were more likely to have an adequate titre increase. Based on these findings, antibody status should be determined instead of periodic vaccinations to ensure reliable protection without unnecessary vaccinations in adult dogs.**

Since its emergence in the 1970s, canine parvovirus (CPV) has become one of the most important pathogenic viruses of canids worldwide. According to leading expert groups, CPV vaccines are considered as 'core' component and are strongly recommended for all dogs (Day and others 2010 [World Small Animal Veterinary Association (WSAVA)], Welborn and others 2011 [American Animal Hospital Association (AAHA)], Ständige Impfkommision Veterinär 2013 [Standing Committee On Vaccination Vet]). An immunisation coverage of at least 70 per cent should be achieved to develop solid herd immunity (Horzinek 2006, Day and others 2010 [WSAVA]). Presence of CPV antibodies in adult dogs indicates either previous vaccination or environmental exposure and is generally correlated with reliable protection against disease (Greene and Decaro 2012, Greene and Levy 2012). Most dogs responding to vaccination with modified live vaccines (MLVs) or recovering from natural

infection maintain protective antibodies for several years by formation of an immunological memory (Schultz 2006, Schultz and others 2010). Thus, a high level of protection is expected in adult, immune-competent dogs. Although licensed CPV vaccines are considered safe and severe side effects are rare, vaccines should not be administered unnecessarily (Day 2006). Therefore, it is important to identify factors that are associated with presence of antibodies and to evaluate how adult dogs in the field that already possess antibodies react to vaccination.

According to previous studies, prevalence of CPV antibodies in the dog population varies significantly from 64 to 95 per cent (Tennant and others 1991, McCaw and others 1998, Twark and Dodds 2000, Böhm and others 2004, Ottiger and others 2006, Lechner and others 2010, Taguchi and others 2011, Litster and others 2012a). Recently, a Japanese study in domesticated adult dogs raised suspicion that booster vaccinations do commonly not result in a significant rise in CPV antibody titres even if prevaccination antibodies are low (Taguchi and others 2012a). Prevalence studies in the German dog population are missing, and there is only little knowledge about the benefit of booster vaccinations in dogs with pre-existing antibodies.

Therefore, it was the aim of this study (1) to provide information about the prevalence of antibodies to CPV in client-owned, adult, healthy dogs in Southern Germany, (2) to identify factors that are associated with lack of protective antibodies and subsequently determine groups with an increased risk and (3) to evaluate the reaction to vaccination with a CPV MLV by measuring the antibody response in a period of 28 days after immunisation.

### Materials and methods

#### Dog population

The study was performed as clinical trial in client-owned dogs and fulfilled the German guidelines for prospective studies with

Veterinary Record (2015)

doi: 10.1136/vr.103271

**M. Riedl**, DVM,  
**K. Hartmann**, Professor, Dr. med.  
vet., Dr. med. vet. habil., Dipl. ECVIM-  
CA,  
Clinic of Small Animal Medicine,  
Ludwig-Maximilians-Universität of  
Munich, Veterinärstrasse 13, Munich  
80539, Germany

**U. Truyen**, Professor, Dr. med. vet.,  
Dr. med. vet. habil., Dipl. ECVPH,  
Institute for Animal Hygiene and  
Veterinary Public Health, University of  
Leipzig, An den Tierkliniken 1, Leipzig  
04103, Germany

**S. Reese**, Privatdozent, Dr. med. vet.,  
Dr. med. vet. habil.,  
Department of Veterinary Sciences,  
Institute for Anatomy, Histology and  
Embryology, Ludwig-Maximilians-  
Universität of Munich,  
Veterinärstrasse 13, Munich 80539,  
Germany

E-mail for correspondence: m.riedl@  
medizinische-kleintierklinik.de

Provenance: not commissioned;  
externally peer reviewed

Accepted October 8, 2015

December 12, 2015 | Veterinary Record



## Paper

informed owner consent (approved protocol by the Government of Upper Bavaria, Maximilianstrasse 39, 80538 Munich, reference number 55.2-1-54-2532.3-61-11).

One hundred dogs were included in the study between November 2011 and April 2013. Dogs were presented for vaccination either to the Healthcare Service of the Clinic of Small Animal Medicine of the Ludwig-Maximilians-Universität München, Germany, a private practice in Southern Germany, or a charity organisation (Tiertafel).

Only healthy dogs with a minimum age of one year were included in the study. Health status was confirmed by physical examination always performed by the first author (MR). Dogs were excluded if (1) the medical history revealed any illness, anaesthesia, surgery within the last four weeks, or (2) a systemic drug treatment except deworming was performed within the last four weeks, or (3) the required anamnestic data were not available (i.e. lack of current vaccination card, incomplete medical history). Dogs were also excluded if they had received any vaccination against CPV or any antibody preparation containing CPV or feline parvovirus antibodies within the last 12 months.

Information was collected on signalment (age, breed, sex, neutering status, bodyweight), origin (breeder, private household, animal shelter, humane society), environment (urban or rural), housing conditions (other dogs and/or cats in the household), lifestyle (family dog, breeding dog, utility or sporting dog, farm dog), number of daily contacts with other dogs ( $\leq 2$ , 3–5,  $> 5$ ), origin and whether the dog had travelled to Southern or Eastern European countries as well as vaccination status. According to current recommendations, a complete CPV vaccination was defined as a completed primary vaccination series, including MLV in a three-week to four-week interval with the last vaccination at minimum 14–16 weeks of age, a first booster 11–13 months later, and subsequent revaccinations in a triennial cycle (Day and others 2010 [WSAVA], Weilborn and others 2011 [AAHA], Ständige Impfkommision Veterinär 2013).

#### Study protocol

A single dose of a combined MLV containing canine distemper virus, canine adenovirus type 2, and CPV type 2 (CPV-2), strain 154 with a viral titre of  $10^{7.0 \pm 0.4}$  TCID<sub>50</sub> (Nobivac SHP; MSD) was administered subcutaneously on the left lateral abdomen. Owners were advised to record possible side effects, including injection-site reactions, like pain, itchiness, swelling or lumps; transient postvaccinal non-specific illness, like lethargy, fever, anorexia, vomiting, diarrhoea or behavioural changes; and allergic reactions, like anaphylaxis or angioedema. History and physical examination were performed according to an established protocol on days 0, 7 and 28, including examination of injection-site and regional lymph nodes.

#### Detection of CPV antibodies

Blood samples for CPV antibodies were collected on days 0 (pre-vaccination titre), 7 and 28 (postvaccination titre). Samples were frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$  until end of the trial and tested by haemagglutination inhibition (HI) as previously described (Carmichael and others 1980, Thompson and others 1985) with some modifications. Sera were 1:5 diluted with barbital acetate buffer, heat inactivated for 30 minutes at  $56^{\circ}\text{C}$  and preadsorbed to  $10 \mu\text{l}$  of a 50 per cent suspension of swine erythrocytes in PBS for one hour at  $4^{\circ}\text{C}$ . After centrifugation at  $12,000 g$  for five minutes, the supernatant was duplicate diluted over 12 steps in 96-well V-bottomed micro plates (Bio-One; Greiner), beginning with a dilution of 1:10.

Eight haemagglutinating units of CPV-2, strain vBI 265 (provided by: James A. Baker Institute for Animal Health, Cornell University, Ithaca, USA) in barbital acetate buffer were pipetted in each well and incubated for one hour at  $37^{\circ}\text{C}$ . Afterwards,  $50 \mu\text{l}$  of a 0.5 per cent suspension of swine erythrocytes in PBS were added and samples were stored overnight at  $4^{\circ}\text{C}$ .

Plates were evaluated by two independent investigators (MR and an experienced laboratory technician). Divergent results

were rechecked by a further laboratory technician who was blinded to the results of the two primary investigators. All investigators were blinded to the history of the dogs while evaluating the HI tests. Furthermore, positive and negative serum controls as well as virus re-titration were performed to ensure correctness of the test.

The highest serum dilution completely inhibiting haemagglutination of CPV antigen was regarded as end point. An HI titre of at least 1:80 was considered protective against infection, and an at least fourfold increase in CPV antibody titre (two titre steps) was defined as adequate response to vaccination (Carmichael and others 1983, Mouzin and others 2004).

#### Statistical analysis

Statistical analysis was carried out in the graphing and data analysis software BiAS für Windows V10.12 (epsilon-Verlag GbR, Hochheim Darmstadt, Germany), SPSS V22 (IBM Corporation, Armonk, USA) and OriginPro V9.1 (OriginLab Corporation, Northampton, USA). Prevalence of CPV antibodies was defined as proportion of protective HI titres of the total samples. The rate of booster effect due to revaccination was considered as proportion of dogs with an adequate titre increase during the study course. Similarly, the incidence of side effects was calculated as proportion of all vaccinated dogs.

Univariate analysis using asymptotic  $\chi^2$  tests was performed to investigate associations between different variables and lack of protective CPV antibodies as well as inadequate response to vaccination. In case of an expected frequency of less than five in one of the cells in the contingency table, Fisher's exact test was used to determine statistical significance. To assess the strength of associations, ORs and 95% CIs were calculated.

Factors determined to be statistically significant at  $P < 0.1$  were offered to a multivariate binary logistic regression in order to evaluate interactions between them and control for confounding. A Wald  $P < 0.1$  was established as criterion for the stepwise backward exclusion. Due to missing data of two unvaccinated animals, the final data set for the logistic regression contained data of 98 dogs. Hosmer-Lemeshow  $\chi^2$  test, omnibus test of model coefficients and Nagelkerke's pseudo  $R^2$  were conducted to ensure a good fit of the models. Levels of significance were set at  $P < 0.05$ .

#### Results

##### Dog population

The study population consisted of 47 crossbred and 53 purebred dogs, representing 27 different breeds. Of the 59 females, 30 were spayed (50.8 per cent), and 18 of the 41 male dogs were neutered (43.9 per cent). The median age was 5.4 years (range 1.2–13.8 years) and the median bodyweight was 23.3 kg (range 3.1–71.2 kg). On average, the dogs had 4.1 documented CPV vaccinations prior to the study (range 0–13). Two dogs never had a CPV vaccination before.

##### Prevalence of CPV antibodies

Protective antibodies to CPV were detectable in 86.0 per cent (86/100; 95% CI 77.7 to 91.6 per cent) of dogs. Only 19.0 per cent (19/100; 95% CI 12.4 to 27.9 per cent) of dogs were vaccinated according to current guidelines. An improper primary vaccination series had been documented in 49.0 per cent of dogs (49/100; 95% CI 39.4 to 58.7 per cent), whereas 22.0 per cent of dogs (22/100; 95% CI 14.9 to 31.1 per cent) had not received their last CPV revaccination within the last three years (median overdue 1.1 years; range 2.1 weeks to 9.1 years). One of the properly vaccinated dogs (5.3 per cent; 1/19; 95% CI  $< 0.1$  to 26.5 per cent) had no protective titre, while protective antibodies were present in 84.0 per cent (68/81; 95% CI 74.3 to 90.5 per cent) of dogs with improper CPV vaccination.

##### Risk factors for lack of protective antibodies

Dogs having less than two daily contacts with other dogs ( $P = 0.001$ ; Fig 1) and those not vaccinated for at least four years

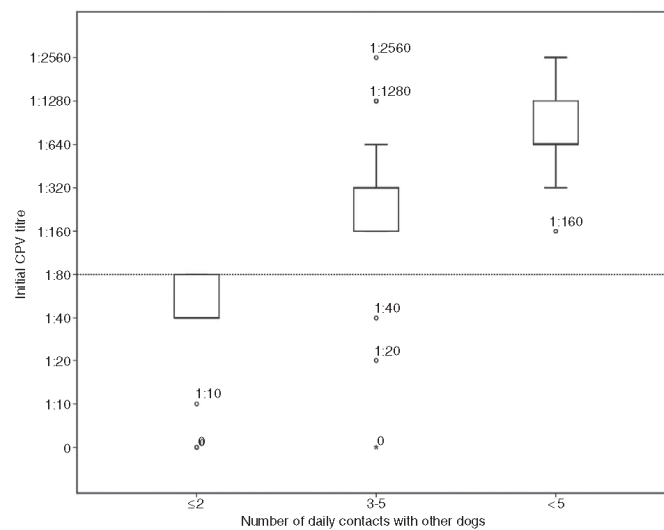


FIG 1: Boxplot demonstrating the association between canine parvovirus (CPV) antibody titre and daily contact with other dogs. Limited daily contact was significantly associated with a lack of protective CPV antibodies ( $P=0.001$ , binary logistic regression), whereas all dogs with frequent daily contact had protective titres. The dashed line represents the haemagglutination inhibition titre of 1:80, which was considered protective against infection. Outliers are indicated by circles and extreme outliers by asterisks

( $P=0.032$ ) were more likely to have non-protective titres (Table 1). The variables age above nine years, bodyweight above 30 kg and origin from private households were significantly associated with lack of CPV antibodies in univariate analysis, but could not be confirmed as risk factors when entered in the multivariate regression.

#### Development of antibody titre after vaccination

No titre increase was observed in 83.0 per cent (83/100; 95% CI 74.4 to 89.2 per cent) of dogs (Table 2). Only 50.0 per cent (7/14; 95% CI 26.8 to 73.2 per cent) of dogs without protective antibodies showed an at least fourfold titre increase. On the other hand, 41.2 per cent (10/17; 95% CI 21.6 to 64.1 per cent) of dogs responding properly to vaccination already had protective initial titres. Dogs with initial titres  $>1:1280$  did not show any rise in antibody titres (Table 2). One dog was identified as non-responder without detectable CPV antibodies during the whole study course. Dogs responding appropriately to vaccination did that most commonly (88.2 per cent; 15/17; 95% CI 64.4 to 98.0 per cent) within the first seven days after vaccination (median postvaccination titre 1:640; range 1:80–1:5120; Fig 2 and Table 2).

#### Risk factors for lack of adequate immune response

An adequate immune response to CPV vaccination was associated with non-protective initial titre ( $P=0.003$ ) and bodyweight  $<10$  kg ( $P=0.003$ ). No association could be demonstrated for the variables age, time since last vaccination and vaccination status (Table 3).

#### Incidence of postvaccination side effects and associated factors

Transient side effects occurred in 37.0 per cent (37/100; 95% CI 28.2 to 46.8 per cent) of dogs. Most commonly, owners reported lethargy (17.0 per cent; 17/100; 95% CI 10.8 to 25.7 per cent), gastrointestinal symptoms (12.0 per cent; 12/100; 95% CI 6.9 to 20.0 per cent), polydipsia (1.0 per cent; 1/100; 95% CI  $<0.1$  to 26.5 per cent) or combinations of problems (5.0 per cent; 5/100;

95% CI 1.9 to 11.5 per cent). Injection-site reactions with local swelling and pain were recorded in two dogs (2.0 per cent; 2/100; 95% CI 0.1 to 6.0 per cent). Inguinal or popliteal lymphadenopathy was observed in 20.0 per cent (20/100; 95% CI 13.3 to 29.0 per cent) of dogs.

Side effects were significantly associated with immune response to vaccination ( $P=0.041$ ; Table 4). This effect was particularly evident with gastrointestinal side effects ( $P=0.028$ ), while lethargy predominantly affected small dogs with bodyweight  $<10$  kg ( $P=0.040$ ). Regional lymphadenopathy mainly occurred in dogs with non-protective initial titre ( $P=0.007$ ) and adequate titre increase ( $P=0.040$ ; Table 4).

#### Discussion

It is not reported in the literature how many German dogs are currently vaccinated against CPV. Clinical disease is still observed despite the availability of effective vaccines (Proksch and others 2015), but is considered mainly to occur in puppies and frequently associated with a previous stay abroad. In the present study, 86.0 per cent of dogs had CPV HI titres of at least 1:80, indicating that the majority was protected against disease at time of presentation. Former investigations revealed prevalence rates of protective antibodies between 64 and 95 per cent (Tennant and others 1991, McCaw and others 1998, Twark and Dodds 2000, Böhm and others 2004, Ottiger and others 2006, Lechner and others 2010, Taguchi and others 2011, Litster and others 2012a), but data in the German dog population are missing. A study in Switzerland, also including some samples of German dogs, found protective HI titres in only 64 per cent of adult dogs without CPV vaccination in the previous 12 months (Ottiger and others 2006). The authors suggested that the comparatively low level of protection could be due to less immunogenic inactivated vaccines used in Switzerland until a few years ago. In contrast, a study in 144 adult dogs in the UK that had not been vaccinated for 3 and 15 years found an antibody prevalence of 95 per cent (Böhm and others 2004), which is closer to the present study. However, the large variation in CPV antibody prevalence can only be explained by a combination of concurrent

Paper

Variable	Category	Number of dogs tested	Number of dogs without protective titre (%)	Univariate analysis ( $\chi^2$ or Fisher's exact test)			Multivariate analysis (binary logistic regression)		
				OR (without protective titre)	95% CI	P value	OR (without protective titre)	95% CI	P value
Age	1-3 years	18	0 (0.0)	0.13	0.02 to 1.09	0.068			
	>3-6 years	40	5 (12.5)	0.81	0.25 to 2.63	0.724			
	>6-9 years	29	4 (13.8)	0.98	0.28 to 3.43	1.000			
	>9 years	13	5 (38.5)	5.42	1.60 to 18.37	<b>0.017</b>			
	≤10.0 kg	19	3 (15.8)	1.19	0.30 to 4.80	0.726			
Body weight	>10-20 kg	23	1 (4.3)	0.22	0.03 to 1.56	0.179			
	>20-30 kg	31	2 (6.5)	0.33	0.07 to 1.48	0.215			
	>30 kg	27	8 (14.8)	4.70	1.54 to 14.31	<b>0.019</b>			
	Breeder	34	5 (14.7)	1.09	0.33 to 3.58	1.000			
	Private household	24	8 (33.3)	5.83	1.92 to 17.69	<b>0.004</b>			
Environment	Animal shelter	13	0 (0.0)	0.19	0.02 to 1.55	0.205			
	Humane society	29	1 (3.4)	0.16	0.02 to 1.03	0.061			
	Urban	59	8 (13.6)	0.92	0.29 to 2.88	0.879			
	Rural	41	6 (14.6)	1.09	0.35 to 3.44	0.879			
	Family dog	71	9 (12.6)	0.70	0.21 to 2.30	0.540			
Lifestyle	Utility or sporting dog	14	2 (14.3)	1.03	0.20 to 5.22	1.000			
	Breeding dog	9	1 (11.1)	0.75	0.09 to 6.53	1.000			
	Farm dog	6	2 (33.3)	3.42	0.19 to 19.07	0.197			
	Other dogs/cats in the household	63	9 (14.3)	0.94	0.33 to 3.48	0.914			
	No other dogs/ cats in the household	37	5 (13.5)	2.72	0.29 to 3.06	0.914			
Housing conditions	<2	12	1 (8.3)	0.15	0.04 to 0.50	<b>0.001</b>	15.34	2.28 to 71.76	<b>0.001</b>
	3-5	59	3 (5.1)	0.11	0.01 to 0.95	<b>0.002</b>	Ref. value	NA	NA
	>5	20	0 (0.0)	0.68	0.22 to 2.14	0.511	<0.01	NA	NA
	South European countries	51	6 (11.8)	0.23	0.03 to 1.78	0.355			
	South and Eastern European countries	11	0 (0.0)	1.58	0.16 to 15.14	0.537			
History from abroad	Eastern European countries	5	1 (20.0)	2.31	0.75 to 7.14	0.219			
	No history from abroad	33	7 (21.2)	0.12	0.03 to 0.40	<b>0.001</b>	Ref. value	NA	NA
	1-2 years	64	3 (4.7)	2.98	0.92 to 9.62	0.088	4.33	0.80 to 23.50	0.090
	>2-4 years	25	6 (24.0)	1.12	0.12 to 11.2	0.968	9.68	1.22 to 76.72	<b>0.032</b>
	>4 years	19	4 (44.4)	1.12	0.12 to 11.2	0.968			
Vaccination status	Properly vaccinated	18	1 (5.3)	0.29	0.04 to 0.47	0.296			
	Not properly vaccinated	40	5 (12.5)	3.44	0.55 to 21.04	<b>0.017</b>			
	Strain NL-35	26	4 (15.4)	0.89	0.27 to 2.98	0.853			
	Strain 780916	19	3 (15.8)	1.29	0.32 to 5.27	0.720			
	Strain CAG2	10	1 (10.0)	0.70	0.08 to 6.07	1.000			
Last parvovirus MLV	Other strains	3	0 (0.0)	0.87	0.59 to 1.29	1.000			

Bold values indicate statistically significant MLV, modified live vaccine; NA, not applicable; Ref. value, reference value indicating that this category was used as baseline for comparison for each variable

TABLE 2: Canine parvovirus (CPV) titre and at least fourfold titre increase during the course of study

CPV titre	Number of dogs day 0	Number of dogs day 7	Number of dogs day 28	Number of dogs with $\geq 4$ -fold titre increase with the respective basal titre on day 0 (%)
0	5	1	1	4/5 (80.0)
1:10	1	1	0	1/1 (100.0)
1:20	1	0	1	0/1 (0.0)
1:40	7	3	1	2/7 (28.6)
1:80	10	7	9	2/10 (20.0)
1:160	22	20	16	2/22 (9.1)
1:320	23	17	22	3/23 (13.6)
1:640	17	26	25	1/17 (5.9)
1:1280	10	16	18	2/10 (20.0)
1:2560	4	7	6	0/4 (0.0)
1:5120	0	2	1	0/0 (0.0)
Total number of dogs with $\geq 4$ -fold titre increase (%)				17 (17.0)

variables. Natural booster effect based on the exposure to CPV field-strains or vaccine-strains in the dogs' environment can decisively contribute to divergent prevalences in different countries and study populations. In addition, differences in age distribution, vaccination intervals and cut-off titres are further explanations for divergent results. Finally, a few prevalence studies also used indirect fluorescent tests or ELISA for antibody detection, whose results cannot necessarily be compared with results of the gold standard HI (Luff and others 1987).

Several variables were analysed to identify risk factors for the absence of protective CPV antibodies. Overall, CPV antigens are considered to stimulate a strong immune protection and duration of immunity (DOI) of at least 9–10 years by challenge or presence of any antibodies (Schultz 2006, Schultz and others 2010). Dogs in the present study were more likely to lack protective antibody titres (HI titre  $<1:80$ ) if their last vaccination was performed more than four years ago. The majority of dogs (81.0 per cent) was not vaccinated according to current guidelines, but interestingly antibody prevalence was not significantly different compared with dogs with 'proper' vaccination. Besides

vaccination, natural booster can enhance the presence of CPV antibodies. Indeed, statistical analysis identified limited daily contact with other dogs as major risk factor. The importance of natural exposure was further supported by the fact that one of the two unvaccinated dogs had uneventfully acquired CPV antibodies. According to these findings, incidence of clinically inapparent CPV infections is possibly underestimated. The variables origin, lifestyle and stay abroad were expected to reflect different environmental contamination, but effects were too small to be significant. In addition, there were no differences regarding rural or urban environment and cohabitation with other dogs or cats. Although relatively little is known about the effect of age on the dogs' immune system, older dogs are suggested to have lower antibody titres due to a deterioration of their immune response and changes in their lifestyle with lower environmental exposure (McCaw and others 1998, Ortiger and others 2006, Taguchi and others 2011). In the present study, age was not found to be a risk factor neither for lack of antibodies nor for inadequate response to vaccination. These results are in line with a study that compared postvaccination CPV titres in dogs with

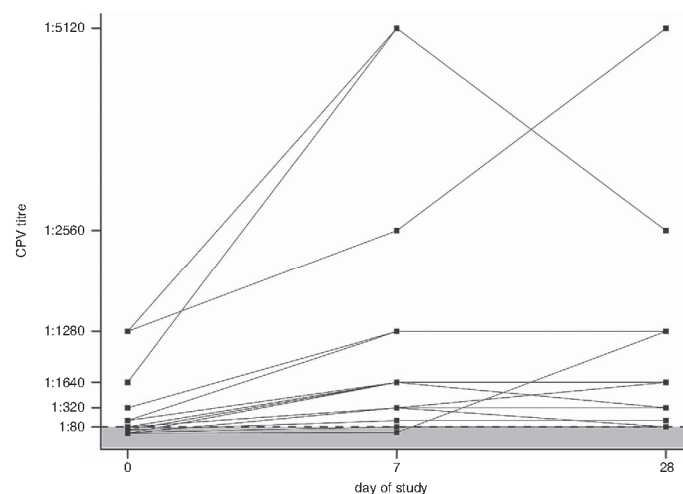


FIG 2: Line chart showing the development of canine parvovirus (CPV) antibody titre in 17/100 dogs with adequate immune response to vaccination (at least fourfold titre increase) during the course of the study. In 88.2 per cent of cases, titres increased within the first seven days after vaccination and far beyond the threshold level indicating an anamnestic immune response. Dogs without protective CPV antibodies were more likely to have an at least fourfold titre increase ( $P=0.003$ , binary logistic regression). The dashed line indicates the haemagglutination inhibition titre of 1:80, which was considered protective against infection

## Paper

TABLE 3: Factors associated with lack of canine parvovirus (CPV) titre increase after vaccination in univariate and multivariate analysis

Variable	Category	Number of dogs tested	Number of dogs without titre increase (%)	Univariate analysis ( $\chi^2$ or Fisher's exact test)			Multivariate analysis (binary logistic regression)		
				OR (without titre increase)	95% CI	P value	OR (without titre increase)	95% CI	P value
Age	1-3 years	18	15 (83.3)	1.03	0.26 to 4.06	1.000			
	>3-6 years	40	34 (85.0)	1.27	0.43 to 3.79	0.664			
	>6-9 years	29	25 (86.2)	1.40	0.41 to 4.73	0.771			
	>9 years	14	9 (69.2)	0.40	0.11 to 1.44	0.227			
Bodyweight	≤10 kg	19	9 (47.4)	0.09	0.03 to 0.24	<b>&lt;0.001</b>	0.05	0.01 to 0.37	<b>0.003</b>
	>10-20 kg	23	21 (91.3)	2.54	0.56 to 11.61	0.346	0.60	0.07 to 5.43	0.646
	>20-30 kg	31	30 (96.8)	9.06	1.55 to 52.96	<b>0.014</b>	2.25	0.19 to 26.76	0.520
	>30 kg	27	23 (85.2)	1.25	0.37 to 4.24	1.000	Ref. value	NA	NA
Time since last vaccination	1-2 years	64	56 (87.5)	2.15	0.74 to 6.31	0.160			
	>2-4 years	25	20 (80.0)	0.71	0.22 to 2.29	0.545			
	>4 years	9	6 (66.7)	0.34	0.08 to 1.47	0.161			
	Vaccination status	19	19 (100.0)	10.58	1.27 to 88.16	<b>0.037</b>			
Initial CPV titre	Properly vaccinated								
	Not properly vaccinated	81	64 (79.0)	0.09	0.01 to 0.79	<b>0.037</b>			
Initial CPV titre	≥1:80	86	76 (88.4)	7.60	2.46 to 23.46	<b>0.002</b>	Ref. value	NA	NA
	<1:80	14	7 (50.0)	0.13	0.04 to 0.41	<b>0.002</b>	0.06	0.01 to 0.39	0.003

Bold values indicate statistically significant

NA, not applicable; Ref. value, reference value indicating that this category was used as baseline for comparison for each variable

median age of 3.2 and 12.1 years and revealed no differences (HogenEsch and others 2004).

A complete lack of antibodies was present in only five dogs, but there were several unexpected findings in these dogs. One of the dogs had never been vaccinated in its 4.5 years of life, and daily contact with other dogs was considered low by the owner. Since the dog responded appropriately to vaccination, lack of natural exposure was the most likely explanation despite the widespread occurrence of CPV. The other four dogs without CPV antibodies had received several MLVs before. Two of them were not vaccinated according to current guidelines. Since incomplete primary vaccination series and missing booster vaccinations are known causes of vaccination failure, lack of antibodies was not unexpected. A recent study in cats revealed that maternally derived antibodies (MDA) can last up to 20 weeks of age and prevent active immunisation despite of three vaccinations at 8, 12 and 16 weeks (Jakel and others 2012). This finding provides the possibility that even individuals with 'proper' primary vaccination series up to 16 weeks of age could fail to develop antibodies because there still might have been interfering MDA at that time. One dog had received primary and booster vaccination according to current recommendations, but the last MLV was administered 4.9 years ago. In view of this vaccination history, the 10.4-year-old family dog should have developed a protective titre and lacking of antibodies was a surprising finding. As the dog also responded adequately to vaccination, a DOI of less than four years seems to be the most likely explanation. The last dog with complete absence of CPV antibodies, a Rottweiler, did not respond to vaccination at all. Since the dog was vaccinated according to current guidelines and had received at least six MLVs in its previous life, it was regarded as non-responder. This was interesting as the dog was owned by a veterinarian and environmental contamination was considered exceptionally high. Former publications estimated that 0.1–0.2 per cent of dogs would be non-responders to CPV vaccines (Larson and Schultz 2007). In certain breeds, including Rottweilers, likelihood of non-responders is higher and they are considered more susceptible to infection (Glickman and others 1985, Houston and others 1996). However, failure to detect antibodies is not necessarily associated with susceptibility to infection and it is likely that this dog was protected due to effective cellular immunity because it very likely had previous contact to CPV but never developed clinical disease.

Only 17.0 per cent of dogs receiving the CPV vaccine responded with an at least fourfold titre increase. These results

confirm the findings of an earlier study (Taguchi and others 2012a) and underline that periodic CPV revaccination does not necessarily lead to a beneficial booster effect on the immune system. Low initial titre was identified as associated factor to vaccine booster effect, indicating that titre has to be low to allow the immune response to occur. Otherwise, pre-existing antibodies neutralise the vaccine virus before it can stimulate immune cells. This mechanism is already known from MDA interfering with active immunisation (Pollock and Carmichael 1982, Carmichael and others 1983). In case of titre increase, 88.2 per cent of dogs responded within the first seven days after vaccination and developed titres far beyond the threshold level. Evidently, this was due to anamnestic response and reactivation of memory B cells with more rapid and increased antibody production (Schultz and Conklin 1998). Re-exposure to antigen is primarily characterised by long-lasting IgG antibodies, while primary immune response is significantly slower and mainly mediated by interferon and IgM antibodies (Greene and Levy 2012). Based on these findings, antibody testing – also in the form of established point-of-care tests (Tizard and Ni 1998, Litster and others 2012b) – should be recommended as part of annual health checks in adult dogs in order to avoid frequent unnecessary vaccinations.

Another factor associated with response to vaccination was the bodyweight. In contrast to other pharmaceuticals, vaccines are not formulated based on bodyweight or body surface area. One standard vaccine dose represents the minimum amount of antigen provoking an immune response (Tizard 2004). In the present study, large dogs >30 kg had a higher risk of not having protective antibodies at least in univariate analysis, and small dogs <10 kg were more likely to show an increase in titres after vaccination. Half of the dogs without protective antibodies did not develop an adequate titre increase and all of them had a bodyweight >10 kg. A deficient stimulating effect on the immune system of large dogs might be the explanation. A relationship between bodyweight and antibody response has already been documented in a few studies. Smaller dogs were found to develop higher CPV and rabies titres due to beneficial vaccine dose-effect or less subcutaneous fat (Kennedy and others 2007, Taguchi and others 2012b). Deposition and sequestration of antigen in deep fat are known to reduce the level of immune response to hepatitis B vaccination in humans (Shaw and others 1989).

Postvaccination side effects occurred in 37.0 per cent of dogs. Compared with other reports, this is a relatively high incidence

TABLE 4: Factors associated with postvaccination side effects

		All side effects			Lethargy			Gastrointestinal side effects			Regional lymphadenopathy			
Variable	Category	Number of dogs tested	Number of dogs with side effects (%)	OR (95% CI)	P value	Number of dogs with lethargy (%)	OR (95% CI)	P value	Number of dogs with gastrointestinal side effects (%)	OR (95% CI)	P value	Number of dogs with lymphadenopathy (%)	OR (95% CI)	P value
Bodyweight	≤10 kg	19	10 (52.6)	2.22 (0.82 to 6.06)	0.117	8 (42.1)	2.95 (1.05 to 8.35)	<b>0.040</b>	5 (26.3)	2.27 (0.69 to 7.45)	0.180	5 (26.3)	1.57 (0.49 to 5.03)	0.525
	>10–20 kg	23	8 (34.8)	0.88 (0.33 to 2.35)	0.802	4 (17.4)	0.60 (0.18 to 1.97)	0.398	5 (21.7)	1.67 (0.51 to 5.40)	0.516	5 (21.7)	1.15 (0.37 to 3.61)	0.774
	>20–30 kg	31	9 (29.0)	0.60 (0.24 to 1.49)	0.269	6 (19.4)	0.68 (0.24 to 1.93)	0.466	3 (9.7)	0.46 (0.12 to 1.72)	0.378	3 (9.7)	0.33 (0.09 to 1.17)	0.084
	>30 kg	27	10 (37.0)	1.00 (0.40 to 2.51)	0.996	6 (22.2)	0.87 (0.30 to 2.51)	0.800	3 (11.1)	0.58 (0.15 to 2.19)	0.547	7 (25.9)	1.62 (0.57 to 4.61)	0.368
Initial CPV titre	≤1:80	86	29 (33.7)	0.38 (0.12 to 1.18)	0.092	18 (20.9)	0.35 (0.11 to 1.12)	0.094	13 (15.1)	0.65 (0.16 to 2.66)	0.693	13 (15.1)	0.18 (0.06 to 0.55)	<b>0.007</b>
	>1:80	14	8 (57.1)	2.62 (0.85 to 8.09)	0.092	6 (42.9)	2.83 (0.90 to 8.96)	0.094	3 (21.4)	1.53 (0.38 to 6.24)	0.693	7 (50.0)	5.62 (1.83 to 17.27)	<b>0.007</b>
Titre increase after vaccination	≤2 titre steps	17	10 (58.8)	2.96 (1.04 to 8.43)	<b>0.041</b>	6 (35.3)	1.97 (0.65 to 6.01)	0.231	6 (35.3)	3.98 (1.27 to 12.48)	<b>0.028</b>	7 (41.2)	3.77 (1.27 to 11.22)	<b>0.040</b>
	>2 titre steps	83	27 (32.5)	0.34 (0.12 to 0.96)	<b>0.041</b>	18 (21.7)	0.51 (0.17 to 1.55)	0.231	10 (12.0)	0.25 (0.08 to 0.79)	<b>0.028</b>	13 (15.7)	0.27 (0.09 to 0.79)	<b>0.040</b>
Bold values indicate statistically significant CPV, canine parvovirus														

Bold values indicate statistically significant CPV, canine parvovirus

but presumably based on the detailed information and survey of dog owners in this study. Dogs with bodyweight <10 kg were more likely to be affected. However, side effects were transient in all cases and did not require any specific treatment. Interestingly, dogs with side effects, particularly gastrointestinal symptoms, were more likely to develop a titre increase. Dogs were vaccinated with MLV, which require multiplication of vaccine virus in the host to be effective, and CPV replication mainly occurs in rapidly dividing cells, like gastrointestinal mucosal cells. Therefore, the observed side effects were most likely a reflection of vaccine virus replication leading to a better immune response. In addition, regional lymphadenopathy occurred more likely in dogs with titre increase.

There were a few limitations to the study. First, the value of data in medical history and report of side effects depended on the information provided by owners. Second, the study population cannot be regarded representative for the whole dog population. Although efforts were made to broaden the study population by inclusion of dogs presented at different facilities, a certain preselection was present. Third, only one vaccine was investigated in the present study, which is a high titre vaccine, and thus, results cannot necessarily be transferred to other CPV vaccines on the market. Finally, the study equalises prevalence of CPV antibodies with protection against disease. Dogs might have been protected even without detectable antibodies due to effective cell-mediated immunity. In addition, it is still under debate which titre actually indicates protection against disease, and it has been proposed that any detectable CPV antibodies indicate that an actively immune dog is protected (Schultz 2006, Schultz and others 2010). Yet, other studies used a HI titre of at least 1:80 as a cut-off for protection, and therefore, this titre was also chosen for the present study. The best way to determine protection would be a challenge with CPV, but for ethical reasons this is not possible in privately owned dogs.

In conclusion, the majority of dogs had protective CPV antibodies at time of presentation. However, there is evidence that the DOI for CPV in the field is no longer than four years as dogs without vaccination within the last four years were less likely protected. Clinical inapparent infections decisively enhance CPV antibodies in adult dogs, and limited contact with other dogs was identified as the main risk factor for the absence of protective titres.

Since only a small number of dogs actually benefited from vaccination, no general advantage of periodic revaccinations can be recognised. Vaccination is only recommended in case of lacking CPV antibodies, and antibody testing should be used as guide for revaccination decisions in the individual dog. A detailed history with special emphasis on vaccination history and contact to other dogs can be a valuable addition. However, both vaccines and in-house tests are most often multivalent, which complicates the ability to tailor vaccination protocols to the needs of individual dogs. The present study only investigated the situation for CPV antibody testing and vaccination, and further studies are necessary to assess usefulness of prevaccination testing for other infectious agents.

Transient side effects to vaccination were common and can be indicative for an adequate immune response to the vaccine. In the future, different vaccine doses should be considered for small-breed and large-breed dogs to ensure sufficient immune response but tolerable side effects.

### Acknowledgements

The authors thank Mrs Nadja Leinecker of the Institute for Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig, for her assistance in the performance of the haemagglutination inhibition tests and Prof. Dr Ralf S. Mueller of the Clinic of Small Animal Medicine, Ludwig-Maximilians-Universität of Munich, for very helpful discussions and additional support in the statistical examination. Parts of the results were presented as an abstract and oral presentation at the 23rd annual conference of the German Society of Internal Medicine



## Paper

and Clinical Pathology of the German Veterinary Association (DVG) in Leipzig, Germany, 23–24 January 2015.

## References

- BÖHM, M., HERRTAGE, M. E., THOMPSON, H., WEIR, A., HASTED, A. M. & MAXWELL, N. S. (2004) Serum antibody titres to canine parvovirus, adenovirus and distemper virus in dogs in the UK which had not been vaccinated for at least three years. *Veterinary Record* **154**, 457–463.
- CARMICHAEL, L. E., JOUBERT, J. C. & POLLOCK, R. V. (1980) Hemagglutination by canine parvovirus: serologic studies and diagnostic applications. *American Journal of Veterinary Research* **41**, 784–791.
- CARMICHAEL, L. E., JOUBERT, J. C. & POLLOCK, R. V. (1983) A modified live canine parvovirus vaccine. II. Immune response. *The Cornell Veterinarian* **73**, 13–29.
- DAY, M. J. (2006) Vaccine side effects: fact and fiction. *Veterinary Microbiology* **117**, 51–58.
- DAY, M. J., HORZINEK, M. C. & SCHULTZ, R. D. (2010) WSAVA guidelines for the vaccination of dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice* **51**, 1–32.
- GLICKMAN, L. T., DOMANSKI, L. M., PATRONEK, G. J. & VISINTAINER, E. (1985) Breed-related risk factors for canine parvovirus enteritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **187**, 589–594.
- GREENE, C. E. & DECARO, N. (2012) Canine viral enteritis. In *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 4th edn. Ed C. E. GREENE. Saunders Elsevier, pp 67–75.
- GREENE, C. E. & LEVY, J. (2012) Immunoprophylaxis. In *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 4th edn. Ed C. E. GREENE. Saunders Elsevier, pp 1163–1205.
- HOGENESCH, H., THOMPSON, S., DUNHAM, A., CEDDIA, M. & HAYEK, M. (2004) Effect of age on immune parameters and the immune response of dogs to vaccines: a cross-sectional study. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **97**, 77–85.
- HORZINEK, M. C. (2006) Vaccine use and disease prevalence in dogs and cats. *Veterinary Microbiology* **117**, 2–8.
- HOUSTON, D. M., RIBBLE, C. S. & HEAD, L. L. (1996) Risk factors associated with parvovirus enteritis in dogs: 283 cases (1982–1991). *Journal of the American Veterinary Medical Association* **208**, 542–546.
- JAKEL, V., CUSSLER, K., HANSCHMANN, K. M., TRUYEN, U., KÖNIG, M., KAMPHUIS, E. & DUCHOW, K. (2012) Vaccination against Feline Panleukopenia: implications from a field study in kittens. *BMC Veterinary Research* **8**, 62.
- KENNEDY, L. J., LUNT, M., BARNES, A., MCELHINNEY, L., FOOKS, A. R., BAXTER, D. N. & OLLIER, W. E. (2007) Factors influencing the antibody response of dogs vaccinated against rabies. *Vaccine* **25**, 8500–8507.
- LARSON, L. J. & SCHULTZ, R. D. (2007) Three-year serologic immunity against canine parvovirus type 2 and canine adenovirus type 2 in dogs vaccinated with a canine combination vaccine. *Veterinary Therapeutics* **8**, 305–310.
- LECHNER, E. S., CRAWFORD, P. C., LEVY, J. K., EDINBORO, C. H., DUBOVI, E. J. & CALIGIURI, R. (2010) Prevalence of protective antibody titers for canine distemper virus and canine parvovirus in dogs entering a Florida animal shelter. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **236**, 1317–1321.
- LITSTER, A., NICHOLS, J. & VOLPE, A. (2012a) Prevalence of positive antibody test results for canine parvovirus (CPV) and canine distemper virus (CDV) and response to modified live vaccination against CPV and CDV in dogs entering animal shelters. *Veterinary Microbiology* **157**, 86–90.
- LITSTER, A. L., PRESSLER, B., VOLPE, A. & DUBOVI, E. (2012b) Accuracy of a point-of-care ELISA test kit for predicting the presence of protective canine parvovirus and canine distemper virus antibody concentrations in dogs. *Veterinary Journal* **193**, 363–366.
- LUFFE, P. R., WOOD, G. W., HEBERT, C. N. & THORNTON, D. H. (1987) Canine parvovirus serology: a collaborative assay. *Veterinary Record* **120**, 270–273.
- MCCAW, D. L., THOMPSON, M., TATE, D., BONDERER, A. & CHEN, Y. J. (1998) Serum distemper virus and parvovirus antibody titers among dogs brought to a veterinary hospital for revaccination. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **213**, 72–5.
- MOUZIN, D. E., LORENZEN, M. J., HAWORTH, J. D. & KING, V. L. (2004) Duration of serologic response to five viral antigens in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **224**, 55–60.
- OTTIGER, H.-P., NEIMEIER-FÖRSTER, M., BRUCKNER, L., STÄRK, K. D. C. & DUCHOW, K. (2006) Serological responses of adult dogs to revaccination against distemper, parvovirus and rabies. *Veterinary Record* **159**, 7–12.
- POLLOCK, R. V. & CARMICHAEL, L. E. (1982) Maternally derived immunity to canine parvovirus infection: transfer, decline, and interference with vaccination. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **180**, 37–42.
- PROKSCH, A. L., UNTERER, S., SPECK, S., TRUYEN, U. & HARTMANN, K. (2015) Influence of clinical and laboratory variables on faecal antigen ELISA results in dogs with canine parvovirus infection. *The Veterinary Journal* **204**, 304–308.
- SCHULTZ, R. D. (2006) Duration of immunity for canine and feline vaccines: a review. *Veterinary Microbiology* **117**, 75–79.
- SCHULTZ, R. D. & CONKLIN, S. (1998) The immune system and vaccines. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian* **20**, 5–18.
- SCHULTZ, R. D., THIEL, B., MUKHTAR, E., SHARP, P. & LARSON, L. J. (2010) Age and Long-term Protective Immunity in Dogs and Cats. *Journal of Comparative Pathology* **142**, S102–S108.
- SHAW, E. E., JR, GUESS, H. A., ROETS, J. M., MOHR, F. E., COLEMAN, P. J., MANDEL, E. J., ROEHM, R. R., JR, TALLEY, W. S. & HADLER, S. C. (1989) Effect of anatomic injection site, age and smoking on the immune response to hepatitis B vaccination. *Vaccine* **7**, 425–430.
- STÄNDIGE IMPFKOMMISSION VETERINÄR (STANDING COMMITTEE ON VACCINATION VET) (2013) Leitlinie zur Impfung von Kleintieren (Vaccination Guidelines for Small Animals). *Deutsches Tierärzteblatt* **7**, S1–S2.
- TAGUCHI, M., NAMIKAWA, K., MARUO, T., ORITO, K., LYNCH, J. & SAHARA, H. (2011) Antibody titers for canine parvovirus type-2, canine distemper virus, and canine adenovirus type-1 in adult household dogs. *Canadian Veterinary Journal* **52**, 983–986.
- TAGUCHI, M., NAMIKAWA, K., MARUO, T., ORITO, K., LYNCH, J., TSUCHIYA, R. & SAHARA, H. (2012a) Booster effect of canine distemper, canine parvovirus infection and infectious canine hepatitis combination vaccine in domesticated adult dogs. *Microbiology and Immunology* **56**, 579–582.
- TAGUCHI, M., NAMIKAWA, K., MARUO, T., SAITO, M., LYNCH, J. & SAHARA, H. (2012b) Effects of body weight on antibody titers against canine parvovirus type 2, canine distemper virus, and canine adenovirus type 1 in vaccinated domestic adult dogs. *Canadian Journal of Veterinary Research* **76**, 317–319.
- TENNANT, B. J., GASKELL, R. M., JONES, R. C. & GASKELL, C. J. (1991) Prevalence of antibodies to four major canine viral diseases in dogs in a Liverpool hospital population. *Journal of Small Animal Practice* **32**, 175–179.
- THOMPSON, H., MACARTNEY, L., MCCANDLISH, I. A. & CORNELL, H. J. (1985) Measurement of antibodies after parvovirus vaccination. *Veterinary Record* **117**, 255.
- TIZARD, I. & NI, Y. (1998) Use of serologic testing to assess immune status of companion animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **213**, 54–60.
- TIZARD, I. R. (2004) The use of vaccines. In *Veterinary Immunology. An Introduction*, 7th edn. Ed I. R. TIZARD. Saunders Elsevier, pp 260–271.
- TWARK, L. & DODDS, W. J. (2000) Clinical use of serum parvovirus and distemper virus antibody titers for determining revaccination strategies in healthy dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **217**, 1021–1024.
- WELBORN, L. V., DEVRIES, J. G., FORD, R., FRANKLIN, R. T., HURLEY, K. E., MCCLURE, K. D., PAUL, M. A. & SCHULTZ, R. D. (2011) AAHA canine vaccination guidelines. *Journal of the American Animal Hospital Association* **47**, 1–42.







## IV. PUBLIKATION II

### **Faecal shedding of canine parvovirus after modified-live vaccination in healthy adult dogs**

**Monika Freisl<sup>1</sup>**

**Stephanie Speck<sup>2</sup>**, Dr. med. vet.

**Uwe Truyen<sup>2</sup>**, Prof. Dr. med. vet., Dr. med. vet. habil., Dipl. ECVPH

**Sven Reese<sup>3</sup>**, PD Dr. med. vet., Dr. med. vet. habil.

**Anna-Lena Proksch<sup>1</sup>**, Dr. med. vet.

**Katrin Hartmann<sup>1</sup>**, Prof. Dr. med. vet., Dr. med. vet. habil., Dipl. ECVIM-CA

<sup>1</sup> Clinic of Small Animal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Munich, Germany

<sup>2</sup> Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig, Leipzig, Germany.

<sup>3</sup> Institute for Anatomy, Histology and Embryology, Department of Veterinary Sciences, LMU Munich, Munich, Germany

**The Veterinary Journal**, veröffentlicht

*The Veterinary Journal* 2017 Jan; 219:15-21; doi: 10.1016/j.tvjl.2016.11.011



## Faecal shedding of canine parvovirus after modified-live vaccination in healthy adult dogs

M. Freisl<sup>a,\*</sup>, S. Speck<sup>b</sup>, U. Truyen<sup>b</sup>, S. Reese<sup>c</sup>, A.-L. Proksch<sup>a</sup>, K. Hartmann<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Clinic of Small Animal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinaerstrasse 13, 80539 Munich, Germany

<sup>b</sup> Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig, An den Tierkliniken 1, 04103 Leipzig, Germany

<sup>c</sup> Institute for Anatomy, Histology and Embryology, Department of Veterinary Sciences, LMU Munich, Veterinaerstrasse 13, 80539 Munich, Germany

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Accepted 18 November 2016

#### Keywords:

CPV  
Subclinical infection  
MLV  
Real-time PCR

### ABSTRACT

Since little is known about the persistence and faecal shedding of canine parvovirus (CPV) in dogs after modified-live vaccination, diagnostic tests for CPV can be difficult to interpret in the post-vaccination period. The primary aim of this study was to determine the incidence, duration and extent of CPV vaccine virus shedding in adult dogs and to investigate related factors, including the presence of protective antibodies, increase in anti-CPV antibody titres and development of any gastrointestinal side-effects. A secondary objective was to assess prevalence of CPV field virus shedding in clinically healthy dogs due to subclinical infections. One hundred adult, healthy privately owned dogs were vaccinated with a commercial CPV-2 modified-live vaccine (MLV). Faeces were tested for the presence of CPV DNA on days 0 (prior to vaccination), 3, 7, 14, 21 and 28 by quantitative real-time PCR. Pre- and post-vaccination serum titres were determined by haemagglutination inhibition on days 0, 7 and 28.

Transient excretion of CPV DNA was detected in 2.0% of dogs before vaccination. About one quarter of dogs (23.0%) shed CPV DNA during the post-vaccination period, but field and vaccine virus differentiation by VP2 gene sequencing was only successful in few samples. Faecal CPV excretion occurred despite protective serum antibody titres. Post-vaccination CPV shedding was not related to adequate antibody response after vaccination or to the occurrence of gastrointestinal side-effects. Despite individual differences, CPV DNA was detectable for up to 28 days after vaccination, although the faecal CPV DNA load in these clinically healthy dogs was very low.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### Introduction

Canine parvovirus (CPV) commonly causes severe gastrointestinal disease, especially in young dogs. Faecal shedding from affected dogs is the major source of infection (Decaro and Buonavoglia, 2012; Greene and Decaro, 2012). In order to prevent epidemics and to protect individual animals, CPV modified-live vaccines (MLV) are recommended core vaccines for all dogs (Day et al., 2010; Welborn et al., 2011; Ständige Impfkommision Veterinär, 2013).

The immune response to MLV is very similar to that induced by natural infection. CPV vaccine strains maintain their capability to replicate in lymphopoietic tissues and the intestinal mucosa, causing viraemia and a brief period of faecal shedding (Carmichael et al., 1981; Veir et al., 2009; Decaro et al., 2014). The amount of virus excreted is considered sufficient to immunise other susceptible in-contact dogs and cats (Carmichael et al., 1984). Depending on the excreted viral load, vaccination can also cause positive results in nucleic-acid amplification assays and faecal antigen tests (Day et al.,

2010). Thus, vaccine virus shedding can lead to misdiagnosis of parvovirus infection in the post-vaccination period. This is a serious diagnostic dilemma, especially in puppies presented with acute gastroenteritis shortly after primary vaccination.

Usually, the attenuated pathogens in MLV are incapable of causing disease. The occurrence of diarrhoea soon after vaccination has led to speculation about reversion to virulence among veterinarians and dog owners. However, a study in dogs with parvovirus-like disease after CPV modified-live vaccination demonstrated that most cases were related to infection with CPV field strains or other pathogens (Decaro et al., 2007).

Little is known about the duration and extent of CPV vaccine virus shedding in the field. A recent study in 26 naïve puppies provided the first reported data on the amount of faecal virus shedding after CPV-2 and CVP-2b vaccination (Decaro et al., 2014). In populations in which CPV is endemic, many adult dogs are likely to have pre-existing antibodies due to prior exposure or vaccination, and details of post-vaccination CPV shedding in adult field dogs remain unreported.

The number of healthy dogs shedding field virus due to sub-clinical infections also remains unclear. Recently, a study in two rescue shelters found a high faecal parvovirus prevalence (overall

\* Corresponding author.

E-mail address: [m.freisl@medizinische-kleintierklinik.de](mailto:m.freisl@medizinische-kleintierklinik.de) (M. Freisl).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.11.011>

1090-0233/© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

**Table 1**  
Inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria	Exclusion criteria
Healthy	CPV vaccination or antibody preparation within the last 12 months
No relevant abnormalities in history and physical examination	Illness, anaesthesia, surgery, or systemic drug treatment (except deworming) within the last 4 weeks
Minimum age of 1 year	Lack of required history data (e.g., lack of current vaccination card)

CPV, canine parvovirus.

37%) in 124 cats, despite the lack of clinical disease (Clegg et al., 2012). However, none of the 122 canine samples from the same shelters was positive for CPV by PCR and thus, shedding of CPV field virus in healthy dogs was considered a rare event.

The objectives of this study performed in healthy adult dogs were to: (1) evaluate the prevalence of CPV field virus shedding; (2) assess the incidence, duration and extent of vaccine virus shedding; and (3) determine factors associated with vaccine virus shedding, including the development of gastrointestinal disease, the presence

of CPV antibodies and the extent of rise in CPV antibody titre after vaccination.

## Materials and methods

### Dogs

This prospective clinical trial enrolled privately owned dogs that were routinely presented to veterinarians for CPV vaccination. The protocol was approved by the responsible veterinary authority (Reference number 55.2-1-54-2532.3-61-11) and fulfilled the general German guidelines for prospective studies with informed owner consent.

One hundred healthy dogs were included (Tables 1 and 2). Dogs belonged to a variety of different breeds (52/100) or were mixed-bred (48/100). Median age was 5.4 years (range, 1.2–13.8 years; 95% confidence interval [CI<sub>95</sub>] 4.8–5.9 years) and median bodyweight was 23.3 kg (range, 3.1–71.2 kg; CI<sub>95</sub> 20.9–25.7 kg). The majority of dogs had a history of prior CPV vaccination (98/100, CI<sub>95</sub> 92.6–99.9) and the median time since the last vaccination was 1.4 years (range, 1.0–12.1 years; CI<sub>95</sub> 1.0–1.7 years).

According to current guidelines, adequate CPV vaccination was defined as completed primary vaccination series, including MLV at a 3–4 week interval with the last vaccination at a minimum of 14–16 weeks of age, a booster vaccination 11–13 months later, and subsequent revaccinations at a minimum of 3-yearly (Day et al., 2010; Welborn et al., 2011; Ständige Impfkommision Veterinär, 2013).

**Table 2**  
Factors associated with post-vaccination canine parvovirus (CPV) shedding (days 3–28 of study).

Variable	Category	Dogs tested (n)	Dogs with faecal CPV shedding (%)	Univariate analysis (Fisher's exact test)		
				Odds ratio (for faecal CPV shedding)	95% Confidence interval	P
Age	1–3 years	18	5 (27.8)	1.32	0.42–4.23	0.759
	>3–6 years	38	9 (23.7)	1.02	0.39–2.67	1.000
	>6–9 years	29	5 (17.2)	0.59	0.20–1.78	0.439
Bodyweight	>9 years	13	4 (30.8)	1.54	0.43–5.57	0.496
	≤10 kg	18	4 (22.2)	0.92	0.27–3.14	1.000
	>10–20 kg	23	6 (26.1)	1.20	0.41–3.55	0.781
	>20–30 kg	30	10 (33.3)	2.12	0.81–5.55	0.195
	>30 kg	27	3 (11.1)	0.32	0.09–1.13	0.109
Sex and neuter status	Female intact	28	6 (21.4)	0.85	0.29–2.45	1.000
	Female neutered	29	9 (31.0)	1.77	0.66–4.71	0.299
	Male intact	23	3 (13.0)	0.41	0.11–1.50	0.262
	Male neutered	18	5 (27.8)	1.32	0.42–4.23	0.759
Environment	Urban	58	12 (20.7)	0.69	0.27–1.77	0.474
	Rural	40	11 (27.5)	1.45	0.57–3.73	0.474
Lifestyle	Family dog	70	16 (22.9)	0.89	0.32–2.48	0.798
	Utility or sporting dog	14	4 (28.6)	1.37	0.38–4.87	0.734
	Breeding dog	8	1 (12.5)	0.44	0.05–3.64	0.676
	Farm dog	6	2 (33.3)	1.69	0.29–9.80	0.623
Housing conditions	Other dogs/cats in the household	61	13 (21.3)	0.73	0.28–1.90	0.624
	No other dogs/cats in the household	37	10 (27.0)	1.37	0.53–3.55	0.624
Daily contact with other dogs	≤2	21	5 (23.8)	1.02	0.33–3.20	1.000
	3–5	57	12 (21.1)	0.73	0.28–1.87	0.630
	>5	20	6 (30.0)	1.54	0.51–4.61	0.555
Time since last vaccination	1–2 years	62	12 (19.4)	0.67	0.25–1.79	0.447
	>2–4 years	25	7 (28.0)	1.58	0.55–4.53	0.408
	>4 years	9	2 (22.2)	1.02	0.19–5.38	1.000
Vaccination status	Fully vaccinated	18	4 (22.2)	0.92	0.27–3.14	1.000
	Not fully vaccinated	80	19 (23.8)	1.07	0.32–3.73	1.000
Last CPV modified live vaccination	Strain 154	38	10 (26.3)	1.53	0.57–4.06	0.453
	Strain-NL-35	26	4 (15.4)	0.57	0.17–1.87	0.417
	Strain 780916	19	4 (21.1)	0.94	0.27–3.23	1.000
	Strain CAG2	10	3 (30.0)	1.62	0.38–6.87	0.686
	Other strains	3	0 (0.0)	0.48	0.10–2.26	1.000
Initial CPV titre	≥80	84	20 (23.8)	1.15	0.29–4.55	1.000
	<80	14	3 (21.4)	0.87	0.22–3.46	1.000
Titre increase after vaccination	≥2 titre steps	17	3 (17.6)	0.65	0.17–2.51	0.755
	<2 titre steps	81	20 (24.7)	1.53	0.40–5.87	0.755
Side-effects after vaccination	Yes	36	8 (22.2)	0.90	0.34–2.39	1.000
	No	62	15 (24.2)	1.12	0.42–2.98	1.000
Gastrointestinal side-effects after vaccination	Yes	15	2 (13.3)	0.45	0.10–2.13	0.509
	No	83	21 (25.3)	2.20	0.47–10.32	0.509
Lethargy after vaccination	Yes	23	6 (26.1)	1.20	0.41–3.55	0.781
	No	75	17 (22.7)	0.83	0.28–2.45	0.781
Regional lymphadenopathy after vaccination	Yes	20	3 (15.0)	0.51	0.14–1.91	0.389
	No	78	20 (25.6)	1.95	0.52–7.30	0.389

**Table 3**  
Overview of primer and probe sequences for PCR amplification of faecal samples.

Primer and probe sequences for QRT-PCR (Strecek et al., 2013)	
Primer/probe	Nucleotide sequence (5'–3')
Forward primer	TGG AAC TAG TGG CAC ACC AA
Reverse primer	AAA TGG TGG TAA GCC CAA TG
Probe	6FAM–CAG GTG ATG AAT TTG CTA CAG G–BHQ1
Primer sequences for VP2 gene sequencing (Steinel et al., 2000)	
M1 (s)	GA AAA CGG ATG GGT GGA AAT
M5 (as)	ATA ACA AAC CCT CTA AAT CCT ATA TCA AAT
M10 (s)	ACA CAT ACA TGG CAA ACA AAT AGA
M13 (s)	AAA TAG AGC ATT GGG CTT ACC ACC ATT TTT
#41 (as)	GCC CTT GTG TAG ACG C

QRT-PCR, quantitative real-time PCR; s, sense sequence to CPV-2 strain vBI 265; as, antisense sequence to CPV-2 strain vBI 265.

#### Study protocol

Medical history taking and physical examination were performed according to an established protocol on days 0, 7 and 28. At the time of initial presentation, dogs received a single dose of a combined MLV (Nobivac SHP, MSD) containing CPV-2, strain 154 with a viral titre of  $10^{7.0-8.4}$  TCID<sub>50</sub>, canine distemper virus and canine adenovirus 2. Dog owners were advised to record possible side-effects, including injection-site reactions (e.g. pain, pruritis, swelling or lumps), transient nonspecific post-vaccination illness (e.g. lethargy, fever, anorexia, vomiting, diarrhoea or behavioural changes) and clinical signs of allergic reactions such as anaphylaxis or angioedema.

Faecal specimens were collected for virological investigations on days 0 (pre-vaccination), 3, 7, 14, 21 and 28. Serum samples for antibody titre evaluations were collected on days 0 (pre-vaccination), 7 and 28. All samples were stored frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### Quantitative real-time PCR (QRT-PCR)

Viral DNA was extracted from 200 mg faeces using the QIAmp DNA Stool Mini Kit (Qiagen). Detection and quantification of faecal CPV DNA was performed by QRT-PCR, according to an established protocol (Strecek et al., 2013; Tables 3 and 4) with a 95% detection limit of 20 gene copies/3  $\mu\text{L}$  of template (standard error, 5.85).

The exact copy number of each unknown sample was calculated using a standard curve designed by four different dilutions of a plasmid-derived DNA standard (initial concentration  $2.7 \times 10^{10}$  copies/3  $\mu\text{L}$  template). All positive day 0 samples and low-positive specimens were confirmed in a threefold PCR approach using freshly purified faeces. Additionally, amplification products were analysed on agarose gel for the presence of DNA fragments of the expected size. To facilitate results comparisons, the number of DNA copies/template was converted to number of copies/g faeces, based on the individual sample weight.

**Table 4**  
Overview of conditions for PCR amplification of faecal samples.

Amplification conditions for QRT-PCR (Strecek et al., 2013)		
Phase	Temperature	Incubation time
Initial denaturation	95 $^{\circ}\text{C}$	15 min
Amplification cycles 40		
Denaturation	95 $^{\circ}\text{C}$	30 s
Annealing	58 $^{\circ}\text{C}$	30 s
Elongation	72 $^{\circ}\text{C}$	30 s
Amplification conditions for VP2 gene sequencing using MyTaq <sup>TM</sup> Red Mix (Bioline)		
Initial denaturation	95 $^{\circ}\text{C}$	3 min
M1 and #41		
Amplification cycles 30		
Denaturation	95 $^{\circ}\text{C}$	30 s
Annealing	47 $^{\circ}\text{C}$	30 s
Elongation	72 $^{\circ}\text{C}$	1 min
M13 and M5 and M10 and M5		
Amplification cycles 35		
Denaturation	95 $^{\circ}\text{C}$	30 s
Annealing	55 $^{\circ}\text{C}$	1 min
Elongation	72 $^{\circ}\text{C}$	1 min
Final extension	72 $^{\circ}\text{C}$	10 min

QRT-PCR, quantitative real-time PCR.

#### Sequencing of VP2 gene

QRT-PCR-positive samples were subjected to VP2 gene sequencing using a modified protocol of Steinel et al. (2000; Tables 3 and 4). Given the fact that the original protocol might no longer work in all current CPV strains due to a recombination in the primer binding region, amplification was performed with a combination of primer pairs M1 and #41, M13 and M5 and M10 and M5. PCR products were sequenced at the Core Unit DNA Technologies of Leipzig University (Interdisziplinäres Zentrum für Klinische Forschung, Faculty of Medicine, University of Leipzig). Determination of open reading frames and subsequent amino acid alignments with corresponding sequences retrieved from the GenBank database<sup>1</sup> was performed in BioEdit 7.2.5 (Hall, 1999) and the implemented ClustalW 1.4 (Thompson et al., 1994).

#### Virus isolation

Virus isolation was performed using faecal specimens for which sequence data were available to demonstrate the presence of infectious virus. Samples were inoculated into Crandell Rees feline kidney cells maintained in Dulbecco's medium (Biocrom) supplemented with 5% foetal calf serum (Sigma Aldrich), 1% non-essential amino acids (Biocrom) and 1% Penicillin–Streptomycin (Biocrom) at 37  $^{\circ}\text{C}$ , 5% CO<sub>2</sub>. Briefly, 200 mg of faeces was suspended in 2.0 mL of phosphate buffered saline (PBS, pH 7.2), centrifuged at 3000  $\times g$  for 5 min, and the supernatant was filtered through a 0.22  $\mu\text{m}$  syringe filter. One hundred microlitres of filter suspensions was used per tissue culture flask (T25). After 7 days of incubation, each culture was sub-cultured and viral growth was determined by QRT-PCR, as described above.

#### Haemagglutination inhibition (HI)

Antibody testing was carried out as previously described by Carmichael et al. (1980), with minor modifications. Sera were distributed into 100  $\mu\text{L}$  aliquots, diluted 1:5 with barbital acetate buffer, heat inactivated for 30 min at 56  $^{\circ}\text{C}$  and pre-adsorbed with 10  $\mu\text{L}$  of a 50% suspension of porcine erythrocytes in PBS for 1 h at 4  $^{\circ}\text{C}$ . After centrifugation at 12,000  $\times g$  for 5 min, serial two-fold dilutions of the supernatant were prepared across 96-well V-plates, beginning with a 1:10 dilution.

Eight haemagglutinating units of CPV-2 strain vBI 265 (provided by the James A. Baker Institute for Animal Health, College of Veterinary Medicine, Cornell University) in barbital acetate buffer were pipetted into each well, according to a published protocol (Parrish and Carmichael, 1983) and samples were incubated for 1 h at 37  $^{\circ}\text{C}$ . After adding 50  $\mu\text{L}$  of a 0.5% suspension of porcine erythrocytes in PBS to each well, samples were stored overnight at 4  $^{\circ}\text{C}$ .

Results were read by two blinded, independent persons and expressed as reciprocal of the highest dilution that prevented haemagglutination by CPV antigen. According to previous studies, a titre  $\geq 80$  was considered protective and a  $\geq 4$ -fold titre increase (2 titre steps) was regarded as an adequate response to vaccination (Carmichael et al., 1983; Mouzin et al., 2004).

#### Statistical analysis

Statistical analysis was performed in BIAs for Windows 10.12<sup>2</sup> and SPSS 22<sup>3</sup>. All tests were conducted at the 0.05 level of significance. Prevalence of CPV shedding was calculated as the proportion of QRT-PCR-positive samples from the total number of faecal samples analysed on day 0 (pre-vaccination) or between days 3 and 28 (post-vaccination). To provide confounder-adjusted estimates, CI<sub>95</sub> was calculated. Fisher's exact test was used to determine statistically significant associations between the incidence of post-vaccination virus shedding and various categorised variables. Odds ratios (OR) and CI<sub>95</sub> were calculated to determine the strength of association and to control for confounding.

In addition to strictly qualitative analysis, the extent of post-vaccination virus shedding was further examined using Kendall tau-b correlations, taking into account the pre-vaccination titre and the increase in titre during the study.

## Results

### Pre-vaccination CPV shedding

The prevalence of pre-vaccination CPV shedding was 2.0% (2/100, CI<sub>95</sub> 0.1–7.4). Viral DNA loads in these 2/100 dogs were  $3.87 \times 10^2$  and  $8.39 \times 10^5$  copies/g faeces (Table 5). In both dogs, faecal CPV shedding occurred despite protective antibody titres of 160 and 320, respectively.

<sup>1</sup> See: GenBank database. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (Accessed 15 November 2016).

<sup>2</sup> See: BIAs for Windows 10.12. <http://www.bias-online.de/> (Accessed 15 November 2016).

<sup>3</sup> See: IBM SPSS Software. <http://www-01.ibm.com/software/analytics/spss/> (Accessed 15 November 2016).

**Table 5**  
Incidence and amount of faecal CPV shedding in 25 dogs (25/100; 25.0%) during course of the study.

Dogs with faecal CPV shedding during study <sup>a</sup>	Faecal virus load (DNA copies/g faeces) on the respective day of study					Number of days with faecal CPV shedding	Mean ± SD faecal virus load (DNA copies/g faeces) on days with CPV shedding
	Day 0 (before vaccination)	Day 3	Day 7	Day 14	Day 21	Day 28	
1	8.39E+05	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	8.39E+05 ± 0.00E+00
2	3.87E+02	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	3.87E+02 ± 0.00E+00
3	2.50E+07	Negative	4.92E+04	Negative	Negative	Negative	1.25E+07 ± 1.25E+07
4	Negative	1.11E+03	Negative	3.05E+02	4.81E+02	Negative	6.32E+02 ± 3.46E+02
5	Negative	7.71E+02	Negative	1.22E+02	3.35E+02	Negative	4.09E+02 ± 2.70E+02
6	Negative	7.59E+02	1.75E+05	Negative	2.36E+02	Negative	5.87E+04 ± 8.23E+04
7	Negative	1.06E+02	Negative	Negative	Negative	Negative	1.06E+02 ± 0.00E+00
8	Negative	6.15E+01	Negative	Negative	Negative	Negative	6.15E+01 ± 0.00E+00
9	Negative	5.63E+01	Negative	Negative	Negative	1.63E+01	3.63E+01 ± 2.00E+01
10	Negative	Negative	5.85E+05	Negative	Negative	Negative	5.85E+05 ± 0.00E+00
11	Negative	Negative	5.72E+05	1.72E+04	Negative	Negative	2.95E+05 ± 2.77E+05
12	Negative	Negative	1.32E+04	Negative	Negative	Negative	1.32E+04 ± 0.00E+00
13	Negative	Negative	Negative	8.38E+04	6.61E+05	5.69E+04	2.67E+05 ± 2.79E+05
14	Negative	Negative	Negative	7.58E+01	5.79E+01	Negative	6.69E+01 ± 8.95E+00
15	Negative	Negative	Negative	3.22E+01	Negative	Negative	3.22E+01 ± 0.00E+00
16	Negative	Negative	Negative	1.48E+01	Negative	Negative	1.48E+01 ± 0.00E+00
17	Negative	Negative	Negative	Negative	1.38E+02	Negative	1.38E+02 ± 0.00E+00
18	Negative	Negative	Negative	Negative	7.14E+01	Negative	7.14E+01 ± 0.00E+00
19	Negative	Negative	Negative	Negative	5.50E+01	Negative	5.50E+01 ± 0.00E+00
20	Negative	Negative	Negative	Negative	3.72E+01	Negative	3.72E+01 ± 0.00E+00
21	Negative	Negative	Negative	Negative	2.40E+01	Negative	2.40E+01 ± 0.00E+00
22	Negative	Negative	Negative	Negative	1.58E+01	Negative	1.58E+01 ± 0.00E+00
23	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	7.90E+01	7.90E+01 ± 0.00E+00
24	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	6.48E+01	6.48E+01 ± 0.00E+00
25	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	2.47E+01	2.47E+01 ± 0.00E+00
Number of dogs with faecal CPV shedding on the respective day of study	2/25 (8.0%)	7/25 (28.0%)	5/25 (20.0%)	7/25 (28.0%)	11/25 (44.0%)	5/25 (20.0%)	
Mean ± SD faecal virus load (DNA copies/g faeces) of dogs with CPV shedding on the respective day of study	4.20E+05 ± 4.19E+05	3.57E+06 ± 8.75E+06	2.79E+05 ± 2.51E+05	1.45E+04 ± 2.89E+04	6.02E+04 ± 1.90E+05	1.14E+04 ± 2.27E+04	

CPV, canine parvovirus; SD, standard deviation.

<sup>a</sup> Pre-vaccination CPV shedding due to subclinical infection was demonstrated in two dogs (2/100; 2.0%), whereas in 23.0% of dogs (23/100) there was CPV shedding between day 3 and day 28 post-vaccination.

**Table 6**  
Summary of the genetic analyses of parvovirus sequences.

Sample		Amino acid position												Antigenic type
Dog number	Day of study	80	87	93	101	103	300	305	323	426	555	564	568	
3	3	R	M	N	I	A	A	D	N	N	V	S	G	CPV-2
10	7	R	L	N	I	A	G	Y	N	–	–	–	–	CPV-2a, 2b, or 2c <sup>d</sup>
11	7	R	M	N	I	A	A	D	N	N	V	S	G	CPV-2

CPV, canine parvovirus.

<sup>a</sup> The amino acid fragment was too short (271 amino acids) for discrimination between CPV-2a, -2b and -2c.

**Table 7**  
Results of virus isolation in the three faecal samples that were sequenced.

Sample	Isolation of CPV in cell culture	
Dog number	Day of study	
3	3	Positive, growth of CPV
10	7	Negative
11	7	Positive, growth of CPV

CPV, canine parvovirus.

#### Post-vaccination CPV shedding

After CPV-2 vaccination, 23.0% of dogs (23/100; CI<sub>95</sub> 15.8–32.2%) shed CPV in the faeces from day 3 to day 28 post-vaccination (Table 5). Almost half of the 23 dogs (47.8%; 11/23; CI<sub>95</sub> 29.2–67.0%) shed CPV on day 21 (mean faecal viral load  $6.02 \times 10^4$  copies/g faeces). However, highest viral loads were detected on day 3 (mean faecal viral load  $3.57 \times 10^6$  copies/g faeces). In most cases (65.2%; 15/23; CI<sub>95</sub> 44.8–81.3%), CPV was detectable only on one of the days investigated; eight dogs shed the virus on 2 or 3 sampling days.

Only 3/35 QRT-PCR-positive samples were successfully subtyped by VP2 sequencing. In two specimens, CPV-2, the vaccine virus, was identified, and the presence of infectious virus was confirmed by virus isolation. In the third specimen, the deduced amino acid fragment was consistent with field virus, but too short for unambiguous subtype classification. Virus culture of this sample was not successful (Tables 6 and 7).

#### Factors associated with post-vaccination CPV shedding

Most dogs had protective CPV antibody titres before vaccination (86.0%; 86/100; CI<sub>95</sub> 77.7–91.6%) and an adequate increase in titres after vaccination only occurred in a small number of dogs (17.0%; 17/100; CI<sub>95</sub> 10.8–25.7%). There was no significant qualitative or quantitative association between post-vaccination viral DNA shedding and the level of pre-vaccination CPV antibodies ( $P = 1.000$ ;  $tb = 0.060$ ), and no association was determined for the extent of increase in CPV antibody titre and post-vaccination viral DNA shedding ( $P = 0.755$ ;  $tb = -0.087$ ). Only 21.4% of dogs with non-protective basal titres (3/14; CI<sub>95</sub> 6.8–48.3%) and 17.6% of dogs with vaccine-induced increase in titres (3/17; CI<sub>95</sub> 5.4–41.8%) shed CPV during the post-vaccination period. However, 87.0% of dogs with post-vaccination CPV shedding (20/23; CI<sub>95</sub> 67.0–96.3%) had protective antibodies before vaccination and only 13.0% of them (3/23; CI<sub>95</sub> 3.7–33.0%) responded adequately to vaccination. There was no association between faecal CPV shedding and gastrointestinal disease ( $P = 0.509$ ), or any other variables investigated (Table 2).

#### Discussion

CPV infection commonly causes severe disease in unprotected dogs and the severity of clinical disease depends on the presence of protective titres. Puppies with sufficient maternally-derived antibodies (Decaro et al., 2005a) and adult dogs with pre-existing

antibodies regardless of titre (Schultz et al., 2010) are considered more likely to develop only subclinical infections. This study demonstrated that subclinical CPV shedding can occur in adult dogs despite the presence of systemic antibodies. Since humoral immunity is known to be the main mechanism for resistance to infection (Pollock and Coyne, 1993) and there is a strong correlation between CPV titre and protection against disease, this was quite unexpected. Discrepancies between serum antibody titres and local mucosal antibodies in the gastrointestinal tract could potentially explain the occurrence of subclinical infections despite protective antibody titres. It is also possible that systemic antibody titres were the result of recent active infection, since CPV induces very early immunogenicity and antibody development can occur within a few days. However, faecal virus loads in this study were substantially lower than previously reported for dogs with clinical disease (Decaro et al., 2005b). This could be explained by low levels of viral replication in the face of pre-existing systemic or local antibodies in the intestinal mucosa. These findings are also in agreement with the results of a recent experimental study in specific pathogen free (SPF) puppies. Despite protective titres after vaccination and protection against disease after challenge, the SPF puppies were susceptible to infection and shed the challenged viral strains without clinical disease (Siedek et al., 2011).

The present study demonstrates that subclinical CPV infections do occur in adult field dogs, confirming previous findings (Greene and Decaro, 2012). This is important information because it indicates that not only dogs with clinical signs consistent with CPV infection but also healthy dogs can serve as source of environmental contamination. It also makes the diagnosis of CPV-associated disease more complicated, since the presence of faecal CPV DNA does not necessarily imply clinical disease; rather, it indicates that periodic exposure to CPV is likely to be common in dogs and this natural boosting contributes to the maintenance of reliable protection against disease. The findings suggest that natural CPV infection in dogs with pre-existing systemic immunity is most likely restricted to transient subclinical viral shedding.

Besides the overall low prevalence of pre-vaccination field virus shedding (2.0%), CPV DNA shedding was detectable in 23.0% of dogs during the post-vaccination period. Unfortunately, the origin of the virus was determined in only 3/35 cases. Two of the dogs shed the vaccine strain and one was shedding a field CPV isolate of undetermined subtype. The inability to successfully subtype CPV from the remaining samples was most likely related to the very low quantities of CPV-2 DNA in those samples. The fact that all three successfully subtyped CPV-2 products were amplified from specimens with comparatively high loads of viral DNA supports this view.

Compared to natural infection, vaccination with MLV is thought to induce shedding of much lower amounts of CPV DNA. Therefore, it was important to choose a very sensitive real-time PCR assay that allowed for accurate and reliable quantification of the faecal CPV load. The very low amounts of target DNA close to the detection limit of the assay are a likely explanation for the intermittent viral DNA detection in some dogs. Furthermore, false negative results might have occurred, since the PCR assay lacked an internal control.



It was recently demonstrated that the CPV load in the blood of vaccinated dogs is significantly lower than in dogs with clinical disease and that quantification can be used for differentiation between naturally infected, diseased, and vaccinated dogs (Veir et al., 2009). However, as shown in at least one dog in the present study, subclinically infected dogs can excrete small amounts of field virus DNA during the post-vaccination period. Thus, field virus cannot be differentiated from vaccine strains based on CPV-2 faecal load alone and molecular assays should be used for unambiguous discrimination (Decaro et al., 2006a, 2006b). It was clearly demonstrated in this study that intact vaccine virus was excreted that was capable of replication using cell culture. However, it remains unclear whether the small amounts of CPV-2 DNA would be sufficient to immunise susceptible dogs.

In the present study, faecal CPV-2 shedding was observed for up to 28 days after vaccination, peaking on day 21, and the highest viral loads occurred on day 3. The results of a previous study in CPV-naïve puppies reported that vaccine virus was not shed beyond day 21 after CPV-2 and CPV-2b vaccination, and the highest faecal viral DNA loads were detected on day 7 or day 10 (Decaro et al., 2014). In agreement with these data, shedding of the CPV-2 vaccine strain on day 3 and day 7 was detected in the present study. Since the identity of the remaining viruses was not confirmed, it is not possible to draw any conclusions about the duration of vaccine strain shedding beyond day 7 post-vaccination.

In natural CPV infections, virus is excreted in the faeces from 4–6 days until several weeks after exposure (Decaro et al., 2005b). Development of local intestinal antibodies is most likely the key factor in the termination of virus excretion. Additionally, it has been suggested that high serum antibody concentrations reduce faecal virus load by crossing the intestinal barrier (Proksch et al., 2015). Therefore, it has been suggested that pre-existing circulating antibodies might inhibit the colonisation of the gastrointestinal epithelium and therefore faecal virus shedding in the post-vaccination period. In the present study, there was no qualitative or quantitative association between pre-vaccination antibody titres and post-vaccination viral shedding. In fact, the majority of dogs (87.0%) with post-vaccination CPV shedding had protective serum antibodies, indicating that there was no correlation between systemic protection and local intestinal infection. This conclusion was further supported by the lack of relationship between viral excretion and response to vaccination. Some adult dogs in the present study shed CPV DNA even for a longer period than recently reported in naïve puppies (Decaro et al., 2014). However, there were important individual differences between dogs and studies; thus, the extension of the investigation period beyond 28 days post-vaccination is recommended for future studies.

Interestingly, in the present study, the detection of CPV DNA did not depend on age, gender, bodyweight, vaccination status, or on the development of clinical signs of gastrointestinal disease. However, CPV vaccination might lead to transient impairment of the intestinal barrier, thus favouring clinical signs caused by co-infections or the reactivation of pre-existing infections. This could explain the frequent occurrence of post-vaccination enteric illness.

## Conclusions

A small percentage of clinically healthy, adult dogs (2.0%) excreted small amounts of CPV field virus in the faeces. Additionally, 23.0% of dogs shed CPV in the post-vaccination period, although the definitive origin of this virus was determined in only three dogs. In both cases, faecal shedding was detected despite the presence of protective antibody titres. Post-vaccination CPV shedding was not related to adequate antibody response to vaccination or to the development of gastrointestinal side-effects.

## Conflict of interest statement

None of the authors has any personal or financial relationships with people or organisations that could inappropriately influence or bias the content of this paper.

## Acknowledgements

The authors thank Mrs. Nadja Leinecker and Mrs. Dana Rüster of the Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig for their support in laboratory analysis.

## References

- Carmichael, L.E., Joubert, J.C., Pollock, R.V., 1980. Hemagglutination by canine parvovirus: Serologic studies and diagnostic applications. *American Journal of Veterinary Research* 41, 784–791.
- Carmichael, L.E., Joubert, J.C., Pollock, R.V., 1981. A modified live canine parvovirus strain with novel plaque characteristics. I. Viral attenuation and dog response. *The Cornell Veterinarian* 71, 408–427.
- Carmichael, L.E., Joubert, J.C., Pollock, R.V., 1983. A modified live canine parvovirus vaccine. II. Immune response. *The Cornell Veterinarian* 73, 13–29.
- Carmichael, L.E., Pollock, R.V., Joubert, J.C., 1984. Response of puppies to canine-origin parvovirus vaccines. *Modern Veterinary Practice* 65, 99–102.
- Clegg, S.R., Coyne, K.P., Dawson, S., Spibey, N., Gaskell, R.M., Radford, A.D., 2012. Canine parvovirus in asymptomatic feline carriers. *Veterinary Microbiology* 157, 78–85.
- Day, M.J., Horzinek, M.C., Schultz, R.D., 2010. WSAVA guidelines for the vaccination of dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice* 51, 1–32.
- Decaro, N., Buonavoglia, C., 2012. Canine parvovirus – A review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Veterinary Microbiology* 155, 1–12.
- Decaro, N., Campolo, M., Desario, C., Elia, G., Martella, V., Lorusso, E., Buonavoglia, C., 2005a. Maternally-derived antibodies in pups and protection from canine parvovirus infection. *Biologicals: Journal of the International Association of Biological Standardization* 33, 261–267.
- Decaro, N., Desario, C., Campolo, M., Elia, G., Martella, V., Ricci, D., Lorusso, E., Buonavoglia, C., 2005b. Clinical and virological findings in pups naturally infected by canine parvovirus type 2 Glu-426 mutant. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 17, 133–138.
- Decaro, N., Elia, G., Desario, C., Roperto, S., Martella, V., Campolo, M., Lorusso, A., Cavalli, A., Buonavoglia, C., 2006a. A minor groove binder probe real-time PCR assay for discrimination between type 2-based vaccines and field strains of canine parvovirus. *Journal of Virological Methods* 136, 65–70.
- Decaro, N., Martella, V., Elia, G., Desario, C., Campolo, M., Buonavoglia, D., Bellacicco, A.L., Tempesta, M., Buonavoglia, C., 2006b. Diagnostic tools based on minor groove binder probe technology for rapid identification of vaccinal and field strains of canine parvovirus type 2b. *Journal of Virological Methods* 138, 10–16.
- Decaro, N., Desario, C., Elia, G., Campolo, M., Lorusso, A., Mari, V., Martella, V., Buonavoglia, C., 2007. Occurrence of severe gastroenteritis in pups after canine parvovirus vaccine administration: A clinical and laboratory diagnostic dilemma. *Vaccine* 25, 1161–1166.
- Decaro, N., Crescenzo, G., Desario, C., Cavalli, A., Losurdo, M., Colaianni, M.L., Ventrella, G., Rizzi, S., Aulicino, S., Lucente, M.S., et al., 2014. Long-term viremia and fecal shedding in pups after modified-live canine parvovirus vaccination. *Vaccine* 32, 3850–3853.
- Greene, C.E., Decaro, N., 2012. Canine viral enteritis. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, Fourth Ed. Saunders Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp. 67–75.
- Hall, T.A., 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis programme for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41, 95–98.
- Mouzin, D.E., Lorenzen, M.J., Haworth, J.D., King, V.L., 2004. Duration of serologic response to five viral antigens in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224, 55–60.
- Parrish, C.R., Carmichael, L.E., 1983. Antigenic structure and variation of canine parvovirus type-2, feline panleukopenia virus, and mink enteritis virus. *Virology* 129, 401–414.
- Pollock, R.V., Coyne, M.J., 1993. Canine parvovirus. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 23, 555–568.
- Proksch, A.L., Unterer, S., Speck, S., Truyen, U., Hartmann, K., 2015. Influence of clinical and laboratory variables on faecal antigen ELISA results in dogs with canine parvovirus infection. *The Veterinary Journal* 204, 304–308.
- Schultz, R.D., Thiel, B., Mukhtar, E., Sharp, P., Larson, L.J., 2010. Age and long-term protective immunity in dogs and cats. *Journal of Comparative Pathology* 142, 102–108.
- Siedek, E.M., Schmidt, H., Sture, G.H., Raue, R., 2011. Vaccination with canine parvovirus type 2 (CPV-2) protects against challenge with virulent CPV-2b and CPV-2c. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 124, 58–64.

- Ständige Impfkommision Veterinär (Standing Committee on Vaccination Vet), 2013. Leitlinie zur Impfung von Kleintieren (Vaccination Guidelines for Small Animals). Beilage zum Deutschen Tierärzteblatt 7, 1–32.
- Steinel, A., Munson, L., van Vuuren, M., Truyen, U., 2000. Genetic characterization of feline parvovirus sequences from various carnivores. *The Journal of General Virology* 81, 345–350.
- Streck, A.F., Rüster, D., Truyen, U., Homeier, T., 2013. An updated TaqMan real-time PCR for canine and feline parvoviruses. *Journal of Virological Methods* 193, 6–8.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J., 1994. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22, 4673–4680.
- Veir, J.K., Duffy, A.L., Dow, S.W., Lappin, M.R., 2009. Comparison of quantitative PCR and conventional endpoint PCR for amplification of parvovirus DNA in blood from naturally infected and recently vaccinated dogs. In: *Proceedings of the ACVIM Forum and Canadian Veterinary Medical Association Convention*, Montreal, Canada. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 769.
- Welborn, L.V., DeVries, J.G., Ford, R., Franklin, R.T., Hurley, K.F., McClure, K.D., Paul, M.A., Schultz, R.D., 2011. AAHA canine vaccination guidelines. *Journal of the American Animal Hospital Association* 47, 1–42.



## V. DISKUSSION

Die canine Parvovirose gilt in Deutschland gegenwärtig als gut kontrolliert. Dieser Erfolg ist wesentlich dem Einsatz wirksamer Impfstoffe gemäß den Empfehlungen nationaler und internationaler Expertengruppen (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2019) zu verdanken. Entsprechend der Klassifikation als „Core-Impfung“ sollte jeder Hund zu jeder Zeit einen Immunschutz gegen CPV aufweisen. Wurden bis vor Kurzem noch regelmäßige Impfungen mit starren Intervallen propagiert, soll bei adulten Tieren mit abgeschlossener Grundimmunisierung nun zunehmend mehr die individuelle Notwendigkeit von Auffrischungsimpfungen berücksichtigt werden. So können durch die Vermeidung unnötiger Impfungen zum einen unerwünschte Nebenwirkungen reduziert und zum anderen die öffentliche Meinung zum Thema Impfung positiv beeinflusst werden. Davon unangetastet bleibt der Grundsatz, dass mindestens 70 bis 75 % der Individuen einer Population geimpft sein müssen, um einen wirksamen Schutz vor Epidemien zu gewährleisten (DAY & SCHULTZ, 2014m; STIKO VET AM FLI, 2019). Wie gut die Hundepopulation in Deutschland tatsächlich geschützt ist, ist allerdings nicht bekannt. Noch immer treten Krankheitsfälle auf (PROKSCH et al., 2015; GERLACH et al., 2017), wenngleich diese hauptsächlich bei Welpen oder Auslandsimporten beobachtet werden. Außerdem existieren noch keine Untersuchungen, ob es bestimmte Faktoren gibt, die für das individuelle Tier mit einem erhöhten Risiko für einen ungenügenden Immunschutz gegen CPV einhergehen.

Zur Bestimmung des Immunstatus steht eine Messung von Antikörpern in unterschiedlichen Testsystemen zur Verfügung. Dabei gilt der Nachweis von Antikörpern gegen CPV bei adulten Hunden als prognostisch für einen wirksamen Schutz gegen eine Erkrankung (LARSON & BRADLEY, 1996; SCHULTZ & CONKLIN, 1998b; APPEL, 1999; CARMICHAEL, 1999; COYNE et al., 2001; MOUZIN et al., 2004; PRITTIE, 2004; HORZINEK, 2006; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; HOELZER & PARRISH, 2010; GREENE & DECARO, 2012; GREENE & LEVY, 2012; DAY, 2013, 2014; SYKES, 2014b; SYKES, 2014a; PARRISH, 2017) und setzt entweder eine vorangegangene Impfung oder Infektion voraus. Der Nutzen von Wiederholungsimpfungen gegen CPV bei adulten Hunden, die bereits Antikörper aufweisen, ist bislang nur wenig untersucht. Eine japanische

Studie konnte zeigen, dass Boosterimpfungen meist nicht in einem signifikanten Anstieg der Antikörper resultieren, selbst dann, wenn vor der Impfung nur geringe Antikörperkonzentrationen messbar waren (TAGUCHI et al., 2012a).

Das erste Ziel der Arbeit (Publikation 1) war es daher, die Prävalenz von Antikörpern gegen CPV bei gesunden, adulten Hunden in Süddeutschland zu bestimmen und Faktoren zu ermitteln, die mit dem Fehlen von protektiven Antikörpern assoziiert sind. Zudem sollte die Antikörperreaktion auf Impfung mit einer kommerziellen CPV-2-Lebendvakzine untersucht werden, um den Nutzen einer Wiederholungsimpfung zu beurteilen.

Dazu wurden 100 adulte, gesunde Hunde untersucht, die zur routinemäßigen Impfberatung im Gesundheitsvorsorge-Service der Medizinischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München, einer privaten Kleintierpraxis in Süddeutschland und im Rahmen einer Wohltätigkeitsaktion der Münchner Tiertafel vorgestellt wurden. Neben einer gründlichen Anamnese und klinischen Untersuchungen wurden Antikörper gegen CPV mittels HAH unmittelbar vor der Impfung mit einem Kombinationsimpfstoff (Nobivac® SHP) sowie sieben und 28 Tage nach der Impfung gemessen. Ein Titer  $\geq 80$  galt in dieser Studie als protektiv, und ein mindestens vierfacher Titeranstieg (zwei Titerstufen) wurde als adäquates Ansprechen auf die Impfung gewertet (CARMICHAEL et al., 1983; LARSON & SCHULTZ, 1996b; FRIEDRICH & TRUYEN, 2000; MOUZIN et al., 2004; SYKES, 2014b; SYKES & RANKIN, 2014). Der Impfstatus der Hunde wurde gemäß den Empfehlungen der aktuellen Leitlinien zur Impfung von Kleintieren beurteilt. Hunde, die innerhalb der letzten zwölf Monate eine Impfung gegen CPV erhalten hatten, wurden nicht zur Studie zugelassen.

Protektive Antikörper gegen CPV konnten bei 86 % (86/100) der Hunde nachgewiesen werden. Damit war die überwiegende Mehrheit der Hunde bereits zum Zeitpunkt der Vorstellung zur Impfberatung gut geschützt, was eine belastbare Herdenimmunität innerhalb der deutschen Hundepopulation belegt. Vorangegangene Prävalenzstudien in verschiedenen Ländern zeigten z. T. sehr unterschiedliche Ergebnisse (siehe auch Literaturteil, Tabelle 4). So konnte eine Schweizer Studie, die auch zu 33 % Proben deutscher Hunde mit einschloss, lediglich bei 64 % (136/213) der Hunde, die seit mindestens einem Jahr nicht gegen CPV geimpft worden waren, Antikörpertiter  $\geq 80$  nachweisen (OTTIGER et al., 2006). Die Autoren stellten die Vermutung an, dass die niedrige Prävalenz damit

zusammenhänge, dass in der Schweiz bis vor ein paar Jahren nur weniger immunogene Impfstoffe aus inaktiviertem CPV eingesetzt wurden. Im Gegensatz dazu konnte in einer englischen Studie bei 143 Hunden, die in den letzten drei bis 15 Jahren nicht gegen CPV geimpft worden waren, eine Antikörperprävalenz von 94 % ermittelt werden (BÖHM et al., 2004). Dies liegt näher am Ergebnis der vorliegenden Studie. Insgesamt können die heterogenen Ergebnisse verschiedener Prävalenzstudien aber nur durch eine Kombination unterschiedlicher Variablen hinreichend erklärt werden. Dabei muss neben der Impfung insbesondere dem natürlichen Boostereffekt eine zentrale Bedeutung beigemessen werden (BÖHM et al., 2004; LECHNER et al., 2010; GREENE & DECARO, 2012; GREENE & LEVY, 2012; KILLEY et al., 2018). So kann der Kontakt mit CPV-Feld- oder Impfstämmen in der Umgebung der Hunde je nach Land und Zusammensetzung der Studienpopulation sehr unterschiedlich sein. Für eine genauere Einschätzung sollten deshalb weitere Daten zu Herkunft, Haltungsform, Nutzung und Auslandsaufenthalten der Hunde erhoben werden. Auch Parameter, wie Impfhistorie, Altersverteilung innerhalb der Studienpopulation und nicht zuletzt der gewählte Grenzwert, ab dem ein Titer als protektiv gewertet wurde, sollten in die Bewertung verschiedener Prävalenzstudien miteinfließen. In einem Teil der Untersuchungen wurden zudem andere Testverfahren zur Detektion der Antikörper verwendet. Diese Ergebnisse sind nicht zwangsläufig vergleichbar mit denen des HAH, der allgemein als Referenzstandard zur Messung von CPV-Antikörpern anerkannt ist (CARMICHAEL et al., 1980; OSTERHAUS et al., 1980b; SENDA et al., 1986; LUFF et al., 1987; RIMMELZWAAN et al., 1990; MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; TIZARD & NI, 1998; APPEL, 1999; CARMICHAEL, 1999; FRIEDRICH & TRUYEN, 2000; PRITTIE, 2004; YANG et al., 2010; GREENE & DECARO, 2012; DAY, 2014; SYKES & RANKIN, 2014; DAY et al., 2016; THOMAS et al., 2017; KILLEY et al., 2018).

Bedauerlicherweise werden Impfungen nach wie vor vielfach unnötigerweise durchgeführt, insbesondere dann, wenn bei adulten Tieren „blinde“ Auffrischungsimpfungen ohne individuelle Risikoanalyse vorgenommen werden. Verfügt ein adulter Hund bereits über Antikörper, ist eine Impfung gegen CPV unnötig. Da der Immunstatus bei Vorstellung zur Impfung ohne Antikörpermessung nicht bekannt ist, ist es wichtig, Faktoren zu kennen, die mit einem ungenügenden Schutz assoziiert sind. Aus diesem Grund wurde in der

vorliegenden Studie eine Reihe von Variablen hinsichtlich ihres Einflusses auf das Fehlen protektiver Antikörper untersucht. Dabei wurden die Daten zuerst einer Einzelanalyse unterzogen und anschließend, falls statistisch signifikant, einem multivariaten binären logistischen Regressionsmodell zugeführt.

Infektionsversuche und Antikörpermessungen konnten zeigen, dass CPV-Antigene in der Lage sind, eine starke und langanhaltende Immunität von mindestens neun bis zehn Jahren zu induzieren (SCHULTZ, 2006; SCHULTZ et al., 2010). Ein Impfabstand  $\geq$  vier Jahre konnte in der vorliegenden Studie jedoch als einer von zwei Hauptrisikofaktoren für einen unzureichenden Immunschutz identifiziert werden. Überraschenderweise war es aber unerheblich, ob die Hunde ein inkomplettes und/oder inkorrektes Impfschema aufwiesen. Tatsächlich war nur ein kleiner Teil der Hunde (19 %; 19/100) gemäß den Empfehlungen der Leitlinien geimpft. Davon ungeachtet waren protektive Antikörper auch bei der überwiegenden Mehrheit (84 %; 68/81) der Hunde nachweisbar, die nicht konform der Leitlinien geimpft waren. Dies deutet darauf hin, dass für einen Immunschutz gegen CPV neben der Impfung auch die natürliche Boosterung eine wichtige Rolle spielt. Es ist bekannt, dass der Erreger selbst unter ungünstigsten Bedingungen über Monate oder Jahre infektiös bleiben kann (GODDARD & LEISEWITZ, 2010; GREENE & DECARO, 2012; SIEGL, 2012; SYKES, 2014b; DAY et al., 2016; GARDNER, 2017). Dabei sind viele Faktoren entscheidend, ob und in welchem Ausmaß sich die Hunde in ihrem Lebensumfeld immer wieder infizieren. So konnte ein eingeschränkter täglicher Kontakt zu Artgenossen als zweiter Hauptrisikofaktor für das Fehlen von Antikörpern gegen CPV ermittelt werden. Weiter wurde die wichtige Bedeutung der natürlichen Exposition und klinisch inapparenter Infektionen durch die Tatsache gestützt, dass einer der beiden ungeimpften Hunde einen Titer  $\geq 80$  hatte, ohne je eine klinische Erkrankung durchgemacht zu haben. Die Inzidenz solcher klinisch inapparenter Infektionen könnte bislang unterschätzt worden sein. In der Risikoanalyse wurden noch weitere Variablen, wie Herkunft, Haltungsform, Auslandsaufenthalte, Zusammenleben mit anderen Hunden und/oder Katzen sowie städtisches oder ländliches Umfeld, untersucht. Ein unterschiedliches Ausmaß einer CPV-Belastung wäre auch für diese Variablen denkbar gewesen, die Effekte waren jedoch zu gering. Es gilt als erwiesen, dass auch bei Hunden die Leistungsfähigkeit des Immunsystems mit zunehmendem Lebensalter nachlässt; die Signifikanz in Hinblick auf die Protektion gegenüber

Infektionskrankheiten, wie canine Parvovirose, ist jedoch gegenwärtig noch nicht genau bekannt (SCHULTZ et al., 2010). Allerdings wird immer wieder vermutet, dass ältere Hunde, bedingt durch einen zurückgezogenen Lebensstil und eine generell schlechtere Immunantwort, niedrigere CPV-Antikörper besitzen (MCCAW et al., 1998; OTTIGER et al., 2006; TAGUCHI et al., 2011). In der vorliegenden Studie hatte das Alter keinen statistisch signifikanten Einfluss, weder auf die Prävalenz von Antikörpern noch auf die Ausbildung einer adäquaten Immunantwort auf die Impfung. Auch eine frühere Studie, die nach einer CPV-Impfung die Höhe der Antikörper von Hunden mit einem medianen Alter von 3,2 Jahren, denen mit einem medianen Altern von 12,1 Jahren gegenübergestellt hatte, konnte keine signifikanten Unterschiede feststellen (HOGENESCH et al., 2004). Im Einklang dazu zeigen Analysen verschiedener immunologischer Biomarker, dass sich die Immunoseneszenz v. a. auf zellmedierte Immunfunktionen auswirkt, wohingegen die Fähigkeit zur Ausbildung einer humoralen Immunantwort weitgehend unverändert bleibt (DAY, 2010). Weiter gibt es Hinweise, dass Alterungsprozesse speziell die primäre Immunantwort auf eine Erstimpfung beeinträchtigen, die anamnestiche Immunantwort auf ein bekanntes Pathogen jedoch erhalten bleibt (GINALDI et al., 2001; DALL'ARA, 2003; HOGENESCH & THOMPSON, 2010; DAY & SCHULTZ, 2014). Ob und in welchem Ausmaß dies die Immunitätsdauer nach einer Impfung verändert, muss durch weitere Studien geklärt werden (HOGENESCH & THOMPSON, 2010).

Fünf Hunde hatten keine messbaren Antikörper gegen CPV vor der Impfung. Der erste Hund war nie geimpft worden und hatte zugleich nur wenig Kontakt zu anderen Hunden. Da er adäquat auf die Impfung reagierte, ist eine fehlende natürliche Boosterung die wahrscheinlichste Erklärung. Im Unterschied dazu hatten die vier anderen Hunde bereits einige dokumentierte Impfungen mit unterschiedlichen Lebendvakzinen. Jedoch wurden zwei von ihnen nicht entsprechend den Empfehlungen der Leitlinien geimpft. Es ist bekannt, dass eine unvollständige Grundimmunisierung und fehlende Wiederholungsimpfungen zu einem Impfversagen führen können. Zudem konnte eine Studie bei Katzen zeigen, dass hohe MDA-Konzentrationen die Impfantigene noch bis zur 20. Lebenswoche inaktivieren können (JAKEL et al., 2012). Überträgt man diese Erkenntnis auf den Hund, besteht die Möglichkeit, dass die Erstimpfungsserie bis zur 16. Lebenswoche bei einzelnen Welpen, je nach Menge der mit der Muttermilch aufgenommenen

Antikörper, nicht ausreicht. Daher empfehlen internationale Expertengruppen bei besonderer Gefährdungslage und/oder hohen MDA eine Verlängerung der Erstimpfungsserie bis zur 20. Lebenswoche (FORD et al., 2017) oder einen früheren Abschluss der Grundimmunisierung durch die Verabreichung des „traditionellen 12-Monats-Boosters“ bereits ab der 26. Lebenswoche (DAY et al., 2016).

Der vierte Hund, der keine Antikörper vor der Impfung hatte, wurde zuletzt vor 4,9 Jahren geimpft. Da er auf die Impfung einen protektiven Titer entwickelte, ist davon auszugehen, dass durch die letzte Impfung keine ausreichend lange Immunität induziert wurde. Das ist erstaunlich, wenn man bedenkt, dass andere Untersuchungen, z. T. in virusfreier Umgebung, eine langjährige Persistenz protektiver CPV-Antikörper nach MLV-Impfung belegen konnten. So wiesen etwa SCHULTZ et al. spezifische Antikörper noch neun Jahre (in virusfreier Umgebung) oder zehn Jahre (in nicht-virusfreier Umgebung) nach der Impfung mit verschiedenen CPV-Lebendvakzinen nach (SCHULTZ, 2006; SCHULTZ et al., 2010). Ebenso detektierten CARMICHAEL et al. bei fünf Hunden in einer SPF-Kolonie mehr als 6,5 Jahre nach Applikation eines kommerziellen polyvalenten Lebendimpfstoffs noch HAH-Titer  $> 320$  (CARMICHAEL, 1999). Auch für den noch heute häufig verwendeten Cornell-Stamm (CPV-2 780916) sind bei 13 Hunden HAH-Titer  $> 320$  über einen Zeitraum von mindestens sechs Jahren dokumentiert (APPEL et al., 1980b).

Der fünfte Hund ohne nachweisbare CPV-Antikörper, ein Rottweiler, zeigte dagegen überhaupt keine Reaktion auf die Impfung. Da dieser Hund entsprechend den Empfehlungen der Leitlinien geimpft war und bereits vor der Studie mindestens sechs Dosen MLV erhalten hatte, muss er als sogenannter Non-Responder, also als genetischer Nicht-Reagent auf die Impfung, eingestuft werden. Schätzungen zufolge sind etwa 0,1 bis 0,2 % aller Hunde Non-Responder gegenüber CPV-MLV (LARSON & SCHULTZ, 2007; DAY et al., 2016) und etwa 10 % der Hunde weisen keine oder nur sehr niedrige Antikörper gegen CPV auf, die selbst bei einer Nachimpfung unverändert bleiben, oder aber nach einem initialen Titeranstieg schnell wieder auf den niedrigen Ausgangswert abfallen (LARSON et al., 2002). Bei bestimmten Rassen oder Zuchtlinien wird eine höhere Wahrscheinlichkeit für das Auftreten genetischer Non- oder Low-Responder vermutet, so z. B. auch bei Rottweilern (GREENE & LEVY, 2012). Da dies möglicherweise mit einem

erhöhten Erkrankungsrisiko einhergeht (GLICKMAN et al., 1985; HOUSTON et al., 1996), sollten die Hunde idealerweise von der Zucht ausgeschlossen werden (DAY et al., 2016). Im Unterschied zu Nordamerika gilt der Non-Responder-Phänotyp unter Rottweilern in Deutschland und UK noch heute als verbreitet (GREENE & LEVY, 2012; DAY et al., 2016). Dabei ist genauso gut denkbar, dass Non-Responder generell gegen CPV resistent sind und sich weder CPV-Impfvirus noch CPV-Feldvirus in diesen Hunden vermehren kann (weil z. B. die entsprechenden Rezeptoren fehlen). So war auch bei dem Hund in der vorliegenden Studie besonders interessant, dass hier von einer besonders hohen Umgebungsbelastung mit CPV ausgegangen werden muss, da die Besitzerin praktizierende Kleintierärztin war und der Hund regelmäßig Zugang zu den Praxisräumen hatte. Ob und in welcher Höhe der Antikörpertiter als Maß für einen ausreichenden Immunschutz geeignet ist, wird immer wieder diskutiert. Während in Anlehnung an frühere Veröffentlichungen (APPEL et al., 1979b; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982a, 1982b; CARMICHAEL, 1983; CARMICHAEL et al., 1983; POLLOCK & CARMICHAEL, 1983a; POVEY et al., 1983; MEUNIER et al., 1985a; MACARTNEY et al., 1988; OLSON et al., 1988; MCMILLEN et al., 1995; OLSON et al., 1996; CARMICHAEL, 1997; HOSKINS, 1997; MCCAW et al., 1997; MCCAW et al., 1998; APPEL, 1999; CARMICHAEL, 1999; MOUZIN et al., 2004; ALMENDRA et al., 2005; OTTIGER et al., 2006; WANER et al., 2006; CURI et al., 2010; LECHNER et al., 2010; GRAY et al., 2012; LITSTER et al., 2012a; LITSTER et al., 2012b; LUND et al., 2012; DIAZ et al., 2016; KIM et al., 2017; MAHON et al., 2017) in dieser Studie ein HAH-Titer  $\geq 80$  als protektiv gewertet wurde, wird in neuester Zeit zunehmend die Ansicht vertreten, dass der Nachweis von CPV-Antikörpern bei adulten Tieren in jeder Konzentration mit einem wirksamen Schutz assoziiert ist (SCHULTZ & CONKLIN, 1998b; SCHULTZ, 2006; SCHULTZ et al., 2010; GREENE & DECARO, 2012; GREENE & LEVY, 2012; DAY, 2013; DAY et al., 2016). Entscheidend dabei ist, dass das Immunsystem die Antikörper aktiv in Folge einer natürlichen Infektion oder Impfung gebildet hat und bei erneuter Konfrontation mit dem Antigen durch die Ausbildung eines immunologischen Gedächtnisses mit einer schnellen und starken Antikörperproduktion reagieren kann. Ungeachtet dessen ist aber auch die komplette Abwesenheit von Antikörpern nicht zwingend mit einem fehlenden Schutz gleichzusetzen (SCHULTZ, 1995a, 1995b; ABDELMAGID et al., 2004; BURR, 2006; SAALMÜLLER, 2006; BÖHM, 2009; TAGUCHI et al., 2011;

GREENE & LEVY, 2012; KILLEY et al., 2018). Sehr viel wahrscheinlicher ist, dass auch der Hund in der vorliegenden Studie durch eine effektive zellmedierte Immunität geschützt war, da er trotz des anzunehmenden hohen Infektionsdrucks zu keiner Zeit eine klinische Erkrankung entwickelt hatte. Grundsätzlich sind Infektionsexperimente die einzig sichere Methode, einen belastbaren Immunschutz zu überprüfen. Aus ethischen Gründen kann ein solcher Ansatz in einer Studie an Hunden in Privatbesitz jedoch nicht vertreten werden (TAGUCHI et al., 2011).

Nur wenige Hunde (17 %; 17/100) reagierten mit einem adäquaten Titeranstieg auf die Impfung. Dieses Ergebnis deckt sich mit dem vorangegangenen Untersuchungen (HOGENESCH et al., 2004; TAGUCHI et al., 2012a) und unterstreicht die Erkenntnis, dass starre, periodische Impfungen bei adulten Hunden keinen generellen nützlichen Effekt haben (GREENE & LEVY, 2012). Es ist anzunehmen, dass im Serum zirkulierende Antikörper, ähnlich der Situation bei Welpen mit MDA (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982b; CARMICHAEL, 1983; CARMICHAEL et al., 1983), das Impfantigen wirksam neutralisieren, noch bevor eine Immunantwort stimuliert werden kann (GREENE & LEVY, 2012). Einzig Hunde mit niedrigem Antikörpertiter profitieren daher potentiell von einer Auffrischungsimpfung. Dabei zeigten in der vorliegenden Studie 88 % der Hunde, bei denen ein Antikörperanstieg zu verzeichnen war, einen sehr schnellen Anstieg innerhalb von nur sieben Tagen und entwickelten dabei Titer weit über den Schwellenwert hinaus. Beides ist charakteristisch für eine anamnestiche Immunreaktion, bei der nach erneutem Kontakt mit einem bekannten Antigen über die Reaktivierung von B-Gedächtniszellen eine schnelle und starke Produktion von mehrheitlich langanhaltenden IgG-Antikörpern ausgelöst wird (SCHULTZ & CONKLIN, 1998a; DAY & SCHULTZ, 2014d; TIZARD, 2018c). Im Gegensatz dazu verläuft eine primäre Immunantwort, die hauptsächlich durch Interferon und IgM-Antikörper vermittelt wird (GREENE & LEVY, 2012), deutlich langsamer und ist durch eine Latenzphase von etwa fünf bis sieben Tagen gekennzeichnet, bevor erste Antikörper im Blut nachgewiesen werden können (SYKES & RANKIN, 2014).

Ein interessanter Zusammenhang konnte auch zwischen der Immunantwort und dem Körpergewicht gefunden werden. So entwickelten Hunde mit einem Körpergewicht  $\leq 10$  kg signifikant häufiger einen adäquaten Titeranstieg. Dieser Effekt konnte bereits in vorangegangenen Studien beobachtet werden, in denen



kleinere Hunde nach einer Impfung nachweislich höhere CPV- und Tollwutantikörpertiter ausbildeten (KENNEDY et al., 2007; TAGUCHI et al., 2012b). Im Unterschied zu anderen Pharmazeutika wird eine Impfdosis nicht für den individuellen Patienten nach Körpergewicht oder Körperoberfläche berechnet. Da allgemein angenommen wird, dass die Zahl immunsensitiver Zellen durch die jeweilige Spezies vorgegeben ist und nicht von der Größe eines individuellen Tieres bestimmt wird (HUSTEAD, 2001), enthält eine Standardimpfdosis immer die gleiche minimale Menge an Antigen, die eine Immunreaktion auslöst (TIZARD, 2018i). Unabhängig von der unterschiedlichen relativen Impfdosis je nach Körpergewicht des einzelnen Impflings, scheint speziell die Menge an vorhandenem Fettgewebe eine wichtige Rolle in Hinblick auf den Impferfolg zu spielen. Humanmedizinische Untersuchungen deuten darauf hin, dass bei Übergewicht verschiedene Mechanismen die Immunantwort auf eine Impfung beeinträchtigen können. So kann Impfantigen bei Ablage und Sequestration im Fettgewebe schlechter resorbiert werden (POVEY & CARMAN, 1997c; SIEGRIST, 2007b). Zudem kann Übergewicht zu einer geringgradigen chronischen Entzündung führen, was sich ebenfalls direkt negativ auf die antigenspezifische Immunantwort auswirken kann. Bereits in mehreren Studien konnten Übergewicht und ein höherer Körperfettanteil als Risikofaktoren für eine reduzierte Immunantwort auf Tetanus-, rekombinante Hepatitis-B- oder humane-Immunschwäche-Virus-1-Kandidaten-Impfung identifiziert werden (SHAW et al., 1989; ELIAKIM et al., 2006; YOUNG et al., 2013; HOPKINS et al., 2014). Deshalb wird bei Übergewicht oder Adipositas zunehmend mehr Augenmerk auf eine optimale intramuskuläre Applikation gelegt, die durch Variation von Nadellänge, Injektionsstelle und/oder Einstichwinkel erreicht werden kann (ZUCKERMAN, 2000; ZAYBAK et al., 2007; MARSHALL et al., 2013; LARKIN et al., 2018). In der Veterinärmedizin gibt es nur wenige Studien, die diese Zusammenhänge untersucht haben. Dabei können sich Hunde allein durch die enorme Rassevarietät im Endgewicht gravierend unterscheiden, ohne dass Übergewicht vorliegen muss. Eine intramuskuläre Impfung ist bei Hunden bisher nicht üblich. In einer aktuellen Studie konnte erstmals gezeigt werden, dass eine subkutane Impfung mit polyvalenten CPV-MLV am Houhai-Akupunkturpunkt zwischen Schwanzwurzel und Anus höhere Serumantikörper induzieren konnte als eine subkutane Impfung in der Schulter- oder Nackenregion (JIN et al., 2019).

Im Vergleich zu anderen Untersuchungen wurden in der vorliegenden Studie transiente Nebenwirkungen der Impfung relativ häufig beobachtet (37 %; 37/100). Dies ist wahrscheinlich in direktem Zusammenhang mit der ausführlichen Aufklärung und Befragung der Besitzer zu sehen. Hunde mit einem Körpergewicht  $\leq 10$  kg waren insgesamt häufiger betroffen. Für gastrointestinale Nebenwirkungen und regionale Lymphknotenschwellung konnte zudem ein signifikanter Zusammenhang mit einer Antikörperreaktion auf die Impfung nachgewiesen werden. Da CPV für seinen Tropismus für schnellteilende Zellen bekannt ist, können gastrointestinale Nebenwirkungen als Indikator für die Replikation des Impfvirus gewertet werden, die wiederum mit der Stimulation einer Immunantwort einhergeht. Um einen ausreichenden Impferfolg bei möglichst geringem Risiko sicherzustellen, wäre die Entwicklung und Etablierung unterschiedlicher Impfdosen für kleine und große Hunde grundsätzlich wünschenswert. Dagegen ist eine willkürliche Dosisreduktion oder eine fraktionierte Verabreichung der Impfdosis über mehrere Tage für eine vermeintlich bessere Verträglichkeit abzulehnen (DAY et al., 2016; FORD et al., 2017; STIKO VET AM FLI, 2018). Spezielle Untersuchungen, die Rasse und Körpergröße mit Wirksamkeit und Sicherheit eines Impfstoffs in Verbindung bringen, sind bislang nicht verfügbar (HUSTEAD, 2001).

Das Ziel der zweiten Studie (Publikation 2) war es, die Prävalenz von CPV im Kot klinisch gesunder Hunde zu ermitteln und nach der Impfung Inzidenz, Dauer und Menge der Ausscheidung des Impfvirus zu untersuchen. Weiter sollte geprüft werden, ob zwischen Virusausscheidung nach der Impfung und der Antikörpertiter-Entwicklung oder dem Auftreten gastrointestinaler Nebenwirkungen ein Zusammenhang besteht. Die Probanden entsprachen denen der ersten Studie. Zu verschiedenen definierten Zeitpunkten (unmittelbar vor der Impfung sowie drei, sieben, 14, 21 und 28 Tage nach der Impfung) wurde der Kot mittels qPCR auf den Gehalt von CPV-DNA getestet. Positive Proben wurden mittels partieller Gensequenzierung des viralen Strukturproteins-2 (VP2), einem wichtigen CPV-Kapsidprotein, näher untersucht und, sofern dies erfolgreich war, anschließend zur Virusisolierung in eine Zellkultur überführt, um vermehrungsfähiges Virus nachzuweisen.

Eine vorangegangene Studie, die die Prävalenz von Parvoviren im Kot klinisch gesunder Katzen und Hunde in Tierheimen untersucht hatte, zeigte einige

interessante Ergebnisse (CLEGG et al., 2012). CPV (nicht FPV) konnte in 34 % der Kotproben von 74 Katzen (61/180) in einem gemischten Tierheim und in 33 % der Kotproben von 50 Katzen (13/50) in einem reinen Katzentierheim nachgewiesen werden. Im Gegensatz zur hohen CPV-Prävalenz in den Katzenproben, konnte CPV jedoch weder in den 122 Hundekotproben noch in 160 Proben, die aus der Umgebung der Hundezwinger entnommen worden waren, detektiert werden. Dies führte die Autoren zu der Vermutung, dass klinisch inapparente CPV-Infektionen bei Hunden selten sind und vielmehr Katzen als Reservoir der Infektion dienen, und zwar sowohl für die Katzen- als auch für die Hundepopulation. Jedoch spiegelt die Situation in einem Tierheim nicht die in einer natürlichen Umgebung wieder. So konnte in der vorliegenden Studie bestätigt werden, dass subklinische CPV-Infektionen bei gesunden Hunden im Feld vorkommen und somit auch klinisch inapparent infizierte Hunde als Quelle einer Umgebungskontamination eine Rolle spielen. Allerdings war die Prävalenz der CPV-Ausscheidung vor Impfung mit 2 % (2/100) gering, ebenso wie die Menge der ausgeschiedenen Viren ( $3,87 \times 10^2$  und  $8,39 \times 10^5$  Kopien/g Kot). Eine ähnliche Entdeckung hatten bereits SCHMITZ et al. gemacht, die bei einem geringen Prozentsatz klinisch gesunder Hunde und Hunde mit chronischem Durchfall (12 %; 6/50) positive Reaktionen in einer konventionellen nested CPV-PCR detektierten. Laut den Autoren der Studie war jedoch unklar, ob dies Ausdruck einer asymptomatischen/persistierenden Infektion oder einer intestinalen Passage des Virus war (SCHMITZ et al., 2009). Erst vor Kurzem wurde auch bei einem hohen Anteil geimpfter laktierender Hündinnen (64 %; 20/31) die Ausscheidung von CPV-DNA nachgewiesen, wobei je nach Laktationsphase bis zu  $10^9$  Kopien/g Kot in der qPCR gemessen wurden. Auch während der Trächtigkeit wurde in einer Kotprobe eine klinisch inapparente Ausscheidung oberhalb der Nachweisgrenze von  $2 \times 10^5$  Kopien/g Kot entdeckt (BROUSSOU et al., 2016). In jedem Fall erschwert die Tatsache, dass Hunde periodisch CPV im Kot ausscheiden, die Diagnose einer caninen Parvovirose. So zeigt der bloße Nachweis von CPV-DNA im Kot nicht zwangsläufig eine Erkrankung an, sondern kann je nach Virusmenge auch Ausdruck einer klinisch inapparenten Infektion sein und damit zur Aufrechterhaltung der Immunität innerhalb der Population beitragen (DECARO et al., 2005a).

Besonders interessant in der vorliegenden Studie ist, dass eine Virusausscheidung bei beiden Hunden trotz eines protektiven Antikörpertiters von 160 und 320 auftrat.

Da die humorale Immunität als wichtigster Abwehrmechanismus gegen CPV gilt (POLLOCK & COYNE, 1993) und eine verlässliche Korrelation zwischen Titer und Immunität besteht (GREENE & DECARO, 2012), war dies ziemlich unerwartet. Eine unterschiedliche Konzentration systemischer Antikörper im Serum und lokaler Antikörper im Darm könnte hierfür eine Erklärung sein. Auch kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Antikörper von einer kürzlich aktiven Infektion stammen, da CPV sehr früh eine Immunantwort induziert und die Antikörperproduktion bereits innerhalb weniger Tage einsetzt. Die nachgewiesenen Virusmengen waren in beiden Fällen jedoch deutlich geringer als bei Hunden mit klinischer Erkrankung (DECARO et al., 2005b). Dies deutet darauf hin, dass eine Virusreplikation in Gegenwart systemischer und/oder lokaler Antikörper vorkommt, aber offenbar eingeschränkt ist. Ähnliches konnte bereits in einer experimentellen Studie an SPF-Welpen gezeigt werden. Diese waren trotz protektiver systemischer Antikörper nach MLV-Impfung anfällig für eine Infektion und schieden die im Infektionsversuch eingesetzten CPV-Stämme mit dem Kot aus, ohne aber eine klinische Erkrankung zu entwickeln (SIEDEK et al., 2011). Eine klinisch inapparente, aktive intestinale Replikation eines CPV-Feldvirus konnte auch bei Welpen mit hohen Serumkonzentrationen an MDA nachgewiesen werden. Die Welpen zeigten trotz systemischer HAH-Titer von 80 und 160 eine Virusausscheidung im Kot; diese trat im Vergleich zu naiven Kontrolltieren in geringerer Konzentration, zudem verzögert und über einen kürzeren Zeitraum auf (DECARO et al., 2005a). Auch die Autoren dieser Studie führten in Anlehnung an frühere Untersuchungen (MACARTNEY et al., 1988) als überzeugendste Erklärung an, dass spezifische Antikörper in der Zirkulation und/oder der intestinalen Mukosa in der Lage sind, infektiöses Virus zu sequestrieren und so die Virusvermehrung und die Ausscheidung über den Kot zu verzögern und zu limitieren (DECARO et al., 2005a).

Über Inzidenz, Dauer und Menge der Impfvirusausscheidung im Feld ist bisher nur wenig bekannt. Eine Studie an 26 Welpen ohne CPV-Antikörper vor der Impfung konnte hierzu erste Daten liefern (DECARO et al., 2014). Allerdings kann dieses Ergebnis nicht zwangsläufig auf adulte Hunde übertragen werden. Wie in der ersten Studie dieser Arbeit gezeigt werden konnte, besitzt die Mehrheit der Hunde (86 %) bereits vor der Impfung protektive Antikörper gegen CPV. Welchen Einfluss dies auf die Replikation und Ausscheidung des Impfvirus hat, ist nicht untersucht. Dabei

sind weitere Daten dringend wünschenswert, da es durch die Interferenz des Impfvirus mit etablierten Testsystemen, darunter sowohl praxistaugliche Schnelltests auf dem ELISA- oder Immunchromatographie-Prinzip als auch direkte Nachweisverfahren im Labor, wie Elektronenmikroskopie oder PCR, zur Fehldiagnose einer caninen Parvovirose kommen kann (POLLOCK & CARMICHAEL, 1983b; POLLOCK & COYNE, 1993; MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; PRITTIE, 2004; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; GREENE & DECARO, 2012; SYKES, 2014b; PROKSCH & HARTMANN, 2015). Dies ist ein ernstes Problem, insbesondere dann, wenn kurz nach einer CPV-Impfung Symptome einer akuten Gastroenteritis auftreten (DECARO & BUONAVOGLIA, 2012).

CPV-DNA konnte nicht nur im Kot von gesunden Hunden vor der Impfung, sondern auch bei 23 % (23/100) der Hunde nach der Impfung detektiert werden. Es war zu erwarten, dass MLV nur eine geringe Virusausscheidung induzieren. Daher wurde zur Detektion eine sensitive qPCR gewählt, die eine zuverlässige absolute Quantifizierung der Virusmenge ermöglichen sollte. Allerdings war die Menge der Ziel-DNA in den Proben so gering, dass selbst die 95%ige Nachweisgrenze von 20 Genkopien/3 µl Template mit großer Wahrscheinlichkeit wiederholt unterschritten wurde. Dies kann auch am plausibelsten die scheinbar intermittierende Virusausscheidung bei einigen Hunden erklären. Aufgrund der äußerst geringen Mengen an enthaltener DNA war auch die nachfolgende VP2-Gensequenzierung nur in drei von 35 Proben erfolgreich, die vergleichsweise viel Virus enthielten. Während in zwei Proben das Impfvirus nachgewiesen wurde, wurde in der dritten Probe ein Feldvirus gefunden, dessen Subtyp nicht näher zu bestimmen war. Dieser Fund unterstützt die These der periodisch auftretenden klinisch inapparenten Infektionen innerhalb der Hundepopulation, auch direkt im Anschluss an eine Impfung.

Bereits vor zehn Jahren entdeckten VEIR et al., dass die Virusmenge im Blut geimpfter Hunde sehr viel niedriger ist als bei Hunden mit klinischer Infektion. Damit scheint die Quantifizierung der Virusmenge gut geeignet, um zwischen natürlich infizierten kranken Hunden und geimpften Hunden zu unterscheiden (VEIR et al., 2009). Dass in der vorliegenden Studie die Ausscheidung geringer Mengen an Feldvirus-DNA mittels VP2-Gensequenzierung bei einem klinisch gesunden Hund nach der Impfung nachgewiesen werden konnte, zeigt aber, dass

die Quantifizierung alleine nicht ausreicht, um CPV-Impf- und Feldstämme sicher zu unterscheiden. Auch MEGGIOLARO et al. kamen zu dem Schluss, dass eine hohe Kopienzahl in der PCR nicht zuverlässig einer Infektion mit CPV-Feldvirus zuzuordnen ist; war eine hohe Kopienzahl zwar indikativ für die Präsenz eines CPV-2a-Feldstammes, war CPV-2b jedoch in variabler Kopienzahl in Kotproben enthalten (MEGGIOLARO et al., 2017). Damit bleibt die Diskriminierung zwischen CPV-Impf- und Feldvirusausscheidung eine Herausforderung, die nicht allein über die Quantifizierung der Virusmenge gelöst werden kann, insbesondere bei der Variante CPV-2b, die sowohl als Feldvirus in der Umwelt zirkuliert, aber auch in verschiedenen lizenzierten MLV enthalten ist (DECARO & BUONAVOGLIA, 2012). Zur eindeutigen Identifizierung der Virusvariante können molekulare Verfahren eingesetzt werden. Speziell modifizierte MGB-Sonden sind in der Lage, neben CPV-2, das nur mehr als Impfvirus existiert, auch die derzeit in Europa zugelassenen CPV-2b-Impfstämme von CPV-2b-Feldvirus zu unterscheiden (DECARO et al., 2006a; DECARO et al., 2006b; DECARO et al., 2006d). Grundsätzlich wird mit PCR-Verfahren immer nur die Präsenz an viraler DNA nachgewiesen, was nicht zwangsläufig mit infektiösem Virus gleichzusetzen ist (DECARO et al., 2005b; GREENE & DECARO, 2012). Daher war es in der vorliegenden Studie wichtig, durch die anschließende Virusisolierung in der Zellkultur zu belegen, dass nach der Impfung mit MLV tatsächlich intaktes vermehrungsfähiges Impfvirus ausgeschieden wird. Die Induktion einer humoralen Immunantwort durch übertragenes CPV-Impfvirus ist bei ungeimpften Kontakttieren in der Literatur dokumentiert (CARMICHAEL et al., 1981b; CARMICHAEL et al., 1984). Somit kann die Ausscheidung von Impfvirus theoretisch zur Immunisierung empfänglicher Hunde beitragen (GREENE & LEVY, 2012). Ob die sehr geringen Mengen an Impfvirus dafür aber zuverlässig ausreichen, gilt als ungewiss (SYKES, 2014b). Es wird postuliert, dass durch eine fäkal-orale Transmission, ebenso wie durch eine topische Applikation, keine adäquate Protektion vermittelt werden kann, da im Vergleich zu einer parenteralen Verabreichung nicht genügend attenuiertes Virus das lymphatische Gewebe erreicht (GREENE & LEVY, 2012).

Die höchsten Mengen an CPV-DNA konnten am dritten Tag nach der Impfung mit einer durchschnittlichen Virusmenge von  $3,57 \times 10^6$  Kopien/g Kot gemessen werden. Allerdings konnte CPV über den gesamten Studienverlauf, mit einer

Häufung am 21. Tag (48 %, 11/23 Hunde), im Kot der Hunde detektiert werden. Bei den meisten ausscheidenden Hunden (65 %, 15/23 Hunde) war CPV-DNA jedoch nur an einem der Untersuchungstage nachweisbar. Damit zeigt das Ergebnis scheinbare Diskrepanzen zu der vorangegangenen Studie, die die Virusausscheidung bei naiven, ungeimpften Welpen untersuchte. Hier wurden die höchsten Virusmengen im Kot am siebten und zehnten Tag nach CPV-2- und CPV-2b-Impfung gemessen. Ab dem 21. Tag wurde überhaupt keine Ausscheidung mehr festgestellt (DECARO et al., 2014). Allerdings konnte das Impfvirus in der vorliegenden Studie nur in zwei Proben eindeutig identifiziert werden. Diese Proben stammten vom dritten und siebten Studientag. Da der Ursprung der übrigen Viren nicht zu ermitteln war, und, wie die Studie ebenfalls zeigt, eine CPV-Feldvirus-Ausscheidung jederzeit auftreten kann, darf kein Schluss über die Dauer der Impfvirusausscheidung über den siebten Tag hinausgezogen werden. Für zukünftige Studien sollten daher eine Verlängerung des Untersuchungszeitraums und die Verwendung noch sensitiverer Nachweismethoden in Erwägung gezogen werden.

Bei einer natürlichen Infektion wird CPV bereits nach wenigen Tagen in hohen Mengen mit dem Kot ausgeschieden (MACARTNEY et al., 1984). Während die Ausscheidung von infektiösem Virus im Allgemeinen auf einen Zeitraum von zwei bis drei Wochen begrenzt ist, kann Virus-DNA über einen längeren Zeitraum im Kot nachgewiesen werden, im Fall von CPV-2c sogar bis zu 51 Tage post infectionem (DECARO et al., 2005b). Die Entwicklung neutralisierender Antikörper, die die Viruspartikel im Kot binden, gilt als Schlüsselfaktor, um die Ausscheidung von infektiösem Virus wirksam zu beenden (POLLOCK & COYNE, 1993; MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; PRITTIE, 2004; DECARO et al., 2005b; DESARIO et al., 2005; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; PROKSCH et al., 2015). In diesem Zusammenhang ist der Unterschied zwischen lokaler und systemischer Immunität von Bedeutung. So können Hunde trotz hoher Serumantikörper nur niedrige Antikörper im Kot haben und Virus in großen Mengen ausscheiden (RICE et al., 1982). Dennoch lag die Vermutung nahe, dass bei parenteral verabreichtem CPV-Impfvirus (was nicht dem natürlichen Infektionsweg entspricht) angesichts protektiver zirkulierender Antikörper weder eine Besiedelung der Darmepithelzellen noch eine Replikation und fäkale Ausscheidung auftreten würde. 87 % der Hunde (20/23), bei denen CPV-DNA nach

der Impfung im Kot nachgewiesen wurde, hatten jedoch protektive Antikörper im HAH. Damit konnte in der vorliegenden Studie zweifelsfrei gezeigt werden, dass auch hier kein Zusammenhang zwischen systemischem Schutz und lokaler intestinaler Infektion besteht. Diese Schlussfolgerung wird auch dadurch gestützt, dass kein Zusammenhang zwischen einer Virusausscheidung im Kot und einem systemischen Antikörperanstieg nach der Impfung gefunden wurde.

Da das Auftreten gastrointestinaler Symptome nach einer CPV-Impfung immer wieder Anlass für Spekulationen über eine mögliche Virulenzreversion der attenuierten Impfstämme bietet, war es wichtig, zu untersuchen, ob ein Zusammenhang zwischen CPV-Virusausscheidung und gastrointestinalen Nebenwirkungen besteht. Dies konnte aber nicht bestätigt werden. Allerdings ist denkbar, dass eine MLV-Impfung durch transiente Beeinträchtigung der Darmschranke das Auftreten von Koinfektionen oder eine Reaktivierung latenter Infektionen begünstigt. So konnte eine andere Untersuchung belegen, dass die meisten Fälle von Gastroenteritis bei Welpen nach einer CPV-Impfung mit Infektionen durch CPV-Feldstämme oder anderen Pathogenen in Verbindung stehen (DECARO et al., 2007b).

Zu den Limitationen der Arbeit zählte, dass die Zuverlässigkeit der Daten der medizinischen Vorgeschichte wie auch die Beobachtung von Impfnebenwirkungen wesentlich von den Informationen abhing, die im direkten Gespräch mit den Hundebesitzern ermittelt wurden. Dies könnte insbesondere die relativ hohe Zahl an transienten Nebenwirkungen erklären. Außerdem wurde nur ein einziger Impfstoff, eine hochtitrige Vakzine auf Basis von attenuiertem CPV-2, untersucht. Die Ergebnisse hinsichtlich der Immunogenität, aber auch hinsichtlich Höhe und Dauer der Impfvirusausscheidung, können nicht notwendigerweise auf andere Impfstoffe auf dem Markt übertragen werden. Eine weitere Limitation, die ebenso beide Studien betraf, war, dass die Beurteilung des Immunstatus der Hunde ausschließlich über den Nachweis protektiver CPV-Antikörper erfolgte. Dabei ist bekannt, dass eine schnelle anamnestiche Immunantwort und/oder eine effektive zellmedierte Immunität auch Hunde mit niedrigen oder nicht-nachweisbaren spezifischen Antikörpern zu schützen vermag. Dies ist letztendlich nur in einem Infektionsexperiment zu überprüfen, sodass der tatsächliche Schutz der Studienpopulation vor einer Infektion mit virulentem CPV ungewiss bleibt. Abschließend ist eine gewisse Präselektion der Studienpopulation zu nennen.



Obwohl Probanden aus unterschiedlichen Klientelen in die Studie eingeschlossen wurden, darf die Population dennoch nicht als repräsentativ für die gesamte Hundepopulation angesehen werden.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der ersten Studie dieser Arbeit, dass die Hundepopulation in Deutschland gut gegen eine Infektion durch CPV geschützt ist und adulte Hunde nicht von einer routinemäßigen Wiederholungsimpfung nach einem starren Intervall profitieren. Vielmehr führt eine Impfung nur dann zu dem gewünschten Boostereffekt, wenn die Antikörper niedrig sind. Daher sollte ein zeitgemäßes individuelles Impfprogramm bei adulten Hunden unbedingt eine regelmäßige Antikörpermessung zur Bedarfsermittlung beinhalten. So können unnötige Wiederholungsimpfungen vermieden und zugleich kann ein ausreichender Immunschutz gewährleistet werden. Dafür stehen neben einer Analyse im Labor mittlerweile auch etablierte POCT-Systeme zur Verfügung (WANER et al., 1996; TIZARD & NI, 1998; WILHELM et al., 2005; WANER et al., 2006; MAZAR et al., 2009; GRAY et al., 2012; LITSTER et al., 2012b; KIM et al., 2017), die im Rahmen der empfohlenen regelmäßigen Gesundheitschecks zu einer unmittelbaren Entscheidung für oder gegen eine Auffrischungsimpfung genutzt werden können (GREENE & LEVY, 2012). Allerdings enthalten viele Impfstoffe mehrere Komponenten, sodass der praktische Einsatz solcher maßgeschneiderter Impfprotokolle aktuell noch nicht einfach ist. Weitere Untersuchungen sind nötig, um den Nutzen eines derartigen Ansatzes auch für andere impfpräventable Infektionskrankheiten zu ermitteln. Da kleinere Hunde signifikant häufiger Impfnebenwirkungen zeigten, sollte zudem die Entwicklung unterschiedlicher Impfdosen für Hunde entsprechend ihrem Körpergewicht in Betracht gezogen werden. Die Studie zeigte aber auch, dass die Dauer der Immunität für CPV im Feld nicht lebenslang ist und Hunde, deren Impfung  $\geq$  vier Jahre zurückliegt, ein höheres Risiko tragen, keine protektiven Antikörper zu besitzen. Andererseits gibt es deutliche Hinweise darauf, dass neben der Impfung die natürliche Exposition entscheidend zum Immunschutz gegen CPV innerhalb der Population beiträgt. So tragen Hunde mit einem eingeschränkten Kontakt zu Artgenossen ein signifikant höheres Risiko, ungeschützt zu sein. Dabei könnte die Bedeutung klinisch inapparenter CPV Infektionen bislang unterschätzt worden sein. So konnte durch die zweite Studie dieser Arbeit belegt werden, dass gesunde Hunde manchmal kleine Mengen CPV mit dem Kot ausscheiden können, ohne

dabei Symptome zu zeigen und dies ungeachtet eines protektiven systemischen Antikörpertiters. Dieser Fund stützt die These, dass eine natürliche Boosterung mitverantwortlich für die hohe Prävalenz von CPV-Antikörpern in der Hundepopulation ist. Davon abgesehen ermöglicht die zweite Studie einen besseren Einblick in die Persistenz des Impfvirus im Körper und mögliche Interferenzen mit diagnostischen Tests. Demnach scheidet etwa ein Viertel der Hunde über einen Zeitraum von mindestens 28 Tagen nach der Impfung kleine Mengen CPV-DNA mit dem Kot aus und dies unabhängig von der Präsenz systemischer Antikörper, der Entwicklung eines postvakzinalen Titeranstiegs oder dem Auftreten gastrointestinaler Nebenwirkungen.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Die canine Parvovirose zählt zu den wichtigsten impfpräventablen Erkrankungen des Hundes. Entsprechend der Klassifizierung als „Core-Impfung“ sollte jeder Hund zu jeder Zeit vor einer Erkrankung durch CPV geschützt sein. Dabei basiert ein zeitgemäßes Impfkonzzept auf dem Grundsatz, eine belastbare Herdenimmunität sicherzustellen und zugleich unnötige Impfungen individueller Tiere zu vermeiden. Insbesondere ist der Nutzen von regelmäßigen Wiederholungsimpfungen nach einem starren Schema bei adulten Hunden umstritten. Wie gut die Hundepopulation in Deutschland geschützt ist, ist derzeit nicht bekannt. Zur Bestimmung des individuellen Immunstatus steht die Messung von Antikörpern zur Verfügung.

Es wird vermutet, dass eine Exposition zu CPV in der Umwelt erheblich zum Immunschutz beiträgt. Wie viele Hunde CPV aufgrund klinisch inapparenter Infektionen mit dem Kot ausscheiden, ist bisher nicht untersucht. Auch über die Virusausscheidung nach einer MLV-Impfung, die replikationsfähiges attenuiertes CPV enthält, gibt es nur wenig Kenntnis. Dabei wären Untersuchungen dringend erforderlich, da es durch die Interferenz des Impfvirus mit direkten Testmethoden zur Fehldiagnose einer caninen Parvovirose kommen kann.

Das Ziel der ersten Studie war es daher, die Prävalenz von Antikörpern gegen CPV bei gesunden, adulten Hunden zu bestimmen und die Entwicklung des Titers nach kommerzieller MLV-Impfung zu verfolgen. Im Rahmen der Studie sollte zudem untersucht werden, ob es Faktoren gibt, die mit einem Fehlen von Antikörpern und einem unzureichenden Titeranstieg nach der Impfung assoziiert sind, um so bestimmte Risikogruppen innerhalb der Population zu identifizieren.

Das Ziel der zweiten Studie war es, die Prävalenz klinisch inapparenter CPV-Infektionen zu ermitteln und Inzidenz, Dauer und Menge der Virusausscheidung nach der Impfung zu untersuchen. Weiter sollte geprüft werden, ob ein Zusammenhang zwischen Impfvirusausscheidung und der Entwicklung des Antikörpertiters oder dem Auftreten gastrointestinaler Nebenwirkungen besteht.

100 adulte, gesunde Hunde, die zur routinemäßigen Impfung vorgestellt wurden, wurden in die Studie eingeschlossen. Serumproben wurden mittels des Goldstandards HAH unmittelbar vor der Impfung sowie sieben und 28 Tage nach der Impfung auf Antikörper gegen CPV untersucht. Ein Antikörpertiter  $\geq 80$  wurde

als protektiv und ein mindestens vierfacher Titeranstieg als aussagekräftige Immunantwort gewertet. Kotproben der Hunde wurden mittels qPCR vor der Impfung sowie sieben, 14, 21 und 28 Tage nach der Impfung auf den Gehalt an CPV-DNA getestet. Positive Proben wurden mittels partieller VP2-Gensequenzierung und Virusisolierung auf Ursprung und Infektiosität der enthaltenen Viren untersucht.

Die in der ersten Studie ermittelte Prävalenz von Antikörper gegen CPV betrug in der untersuchten Population 86 % (86/100). Ein Impfabstand  $\geq$  vier Jahre und ein eingeschränkter Kontakt zu Artgenossen konnten als Risikofaktoren für fehlende Antikörper identifiziert werden. Nur 17 % (17/100) der Hunde profitierten von der Impfung. Dabei entwickelten Hunde mit einem Titer  $< 80$  und Hunde mit einem Körpergewicht  $\leq 10$  kg häufiger einen adäquaten Titeranstieg. Zugleich prädisponierte ein Körpergewicht  $\leq 10$  kg für das Auftreten milder und vorübergehender Impfnebenwirkungen.

Die in der zweiten Studie evaluierte Prävalenz klinisch inapparenter CPV-Infektionen vor der Impfung lag bei 2 % (2/100). Nach der Impfung konnten bei 23 % (23/100) der Hunde CPV-DNA im Kot nachgewiesen werden. In beiden Fällen war eine Virusausscheidung trotz protektiver Serumantikörper möglich. Die Virusausscheidung nach der Impfung war weder mit einem Titeranstieg noch mit dem Auftreten von Impfnebenwirkungen assoziiert. Die detektierten Virusmengen waren allerdings sehr gering, wobei die höchsten Mengen am dritten Tag und eine Häufung der Ausscheidung am 21. Tag festgestellt wurden. Eine Sequenzierung war nur in drei Fällen erfolgreich. Dabei konnte in zwei Proben infektiöses Impfvirus und in einer Probe ein Feldvirus unbekannten Subtyps gefunden werden.

Die Ergebnisse der Arbeit belegen, dass die deutsche Hundepopulation gut gegen CPV geschützt ist. Klinisch inapparente Infektionen, wie sie bei gesunden Hunden auftreten können, sind neben der Impfung der wichtigste Faktor zur Aufrechterhaltung der Immunität. Im Sinne eines modernen, bedarfsorientierten Impfkonzpts sollte die Notwendigkeit einer Wiederholungsimpfung für den individuellen Hund mittels Antikörpermessung geprüft werden. Weitere Untersuchungen sind nötig, um mehr Daten über die Persistenz des Impfvirus im Körper und mögliche Interferenzen mit diagnostischen Tests zu gewinnen. Dabei sollte v. a. eine Ausdehnung des Untersuchungszeitraums erwogen werden.

## VII. SUMMARY

Canine parvovirus is one of the most important vaccine-preventable infectious diseases of dogs. According to the classification of the CPV component as “core-vaccine”, all dogs should be protected against CPV at any time. Current vaccination recommendations are based on the principle of ensuring reliable herd immunity on the one hand and to avoid unnecessary vaccinations in individual dogs on the other hand. Benefit of regular revaccinations following a strict schedule in adult dogs is currently intensively disputed. Measurement of antibodies can be used to evaluate the immune status of individual dogs. Nevertheless, it is not known how many German dogs are protected against CPV.

There is suspicion that environmental exposition to CPV substantially enhances immunity against CPV. However, it has not been investigated, how many dogs shed CPV in their faeces due to clinically inapparent infections. In addition, only little is known about virus shedding after vaccination with MLV, which contain attenuated CPV able to replicate in the host. Further investigations would be very important since CPV diagnostics based on direct virus detection can be difficult to interpret in the post-vaccination period due to interference with the vaccine virus. This can lead to possible misdiagnosis of CPV infection.

Therefore, the intention of the first study was to provide information about the presence of antibodies against CPV in adult, healthy dogs and to assess change in antibodies titres after vaccination with a commercial MLV. It was also aimed to identify factors that are related with lack of vaccine antibodies or insufficient increase in titres after vaccination and consequently to determine groups with increased risk within the population.

The objective of the second study was to evaluate prevalence of clinically inapparent CPV infections and to investigate incidence, duration, and extent of virus shedding after MLV vaccination. Furthermore, it should be examined whether there is an association between vaccine virus shedding and rise in CPV antibody titre or development of gastrointestinal adverse effects.

The study enrolled 100 adult, healthy dogs that were routinely presented for vaccination. Serum samples were evaluated for CPV antibodies prior to vaccination, as well as seven and 28 days after vaccination using haemagglutination

inhibition (HI) as a goldstandard.

A titre  $\geq 80$  was considered protective, and a minimum 4-fold titre increase was regarded as an adequate immune response to vaccination. Faecal specimens were tested for presence of CPV DNA prior to vaccination as well as seven, 14, 21, and 28 days after vaccination by quantitative real-time PCR. Positive samples were subjected to partial VP2 gene sequencing and virus isolation in order to determine origin and infectivity of the viruses.

The first study revealed that antibodies against CPV were present in 86 % (86/100) of the investigated population. Intervals  $\geq 4$  years since the last vaccination and not having regular contact with other dogs were identified as risk factors for the absence of antibodies  $\geq 80$ . Only 17 % (17/100) dogs actually benefitted from vaccination. Dogs without antibodies before vaccination and dogs with bodyweight of  $\leq 10$  kg were more likely to have an adequate titre increase, while a bodyweight of  $\leq 10$  kg also predisposed for the occurrence of mild and transient post-vaccination adverse effects.

In the second study, clinically inapparent CPV infections were noticed in 2 % (2/100) of dogs before vaccination. CPV-DNA was detected in 23 % (23/100) of dogs during the post-vaccination period. In both cases, virus shedding was possible despite of high serum antibody titres. Post-vaccination virus shedding was neither related to titre increase nor to development of gastrointestinal side effects after vaccination. Overall, detected CPV-DNA loads were very low with highest loads on post-vaccination day 3. The highest number of dogs shedding CPV was found on post-vaccination day 21. Sequencing was only successful in three samples; two specimens contained vaccine virus and one specimen contained a field virus of unknown subtype.

In conclusion, these studies prove that the German dog population is well protected against CPV. Besides vaccination, clinically inapparent infections, which can sporadically occur in healthy dogs, are the most important factor in maintaining immunity. A modern, need-oriented vaccination schedule should use antibody testing as guide for revaccination decisions in the individual dog. There is need for further studies, with special emphasis on a longer investigation period, to obtain more information about persistence of vaccine virus in the body of dogs and possible interferences with diagnostic tests.

## VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Abdelmagid OY, Larson L, Payne L, Tubbs A, Wasmoen T, Schultz R. Evaluation of the efficacy and duration of immunity of a canine combination vaccine against virulent parvovirus, infectious canine hepatitis virus, and distemper virus experimental challenges. *Vet Ther* 2004; 5: 173-86.

Abeles V, Harrus S, Angles JM, Shalev G, Aizenberg I, Peres Y, Aroch I. Hypertrophic osteodystrophy in six Weimaraner puppies associated with systemic signs. *Vet Rec* 1999; 145: 130-4.

Ackermann O, Gruschkau H. Immunisierung von Hundewelpen gegen canine Parvovirose im kontaminierten Milieu. *Die Blauen Hefte* 1981; 64: 163-6.

Acosta-Jamett G, Cunningham A, Bronsvoort BMD, Cleaveland S. Serosurvey of canine distemper virus and canine parvovirus in wild canids and domestic dogs at the rural interface in the Coquimbo region, Chile. *Eur J Wildl Res* 2014; 61: 329-32.

Acosta-Jamett G, Surot D, Cortés M, Marambio V, Valenzuela C, Vallverdu A, Ward MP. Epidemiology of canine distemper and canine parvovirus in domestic dogs in urban and rural areas of the Araucanía region in Chile. *Vet Microbiol* 2015; 178: 260-4.

Adriaansen-Tennekes R, Decuyper E, Parmentier HK, Savelkoul HF. Chicken lines selected for their primary antibody response to sheep red blood cells show differential hypothalamic-pituitary-adrenal axis responsiveness to mild stressors. *Poult Sci* 2009; 88: 1879-82.

Ahmed N, Riaz A, Zubair Z, Saqib M, Ijaz S, Nawaz-Ul-Rehman MS, Al-Qahtani A, Mubin M. Molecular analysis of partial VP-2 gene amplified from rectal swab samples of diarrheic dogs in Pakistan confirms the circulation of canine parvovirus genetic variant CPV-2a and detects sequences of feline panleukopenia virus (FPV).

Virol J 2018; 15: 45.

Ahmed SA, Penhale WJ, Talal N. Sex hormones, immune responses, and autoimmune diseases. Mechanisms of sex hormone action. *Am J Pathol* 1985; 121: 531-51.

Ahmed SA, Talal N. Sex hormones and the immune system—Part 2. Animal data. *Baillieres Clin Rheumatol* 1990; 4: 13-31.

Ajiki M, Takamura K, Hiramatsu K, Nakai M, Sasaki N. 90th Meeting of the Japanese Society of Veterinary Science 1980.

Akita GY, Ianconescu M, MacLachlan NJ, Osburn BI. Bluetongue disease in dogs associated with contaminated vaccine. *Vet Rec* 1994; 134: 283-4.

Alanko S, Pelliniemi TT, Salmi TT. Recovery of blood B-lymphocytes and serum immunoglobulins after chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 1992; 69: 1481-6.

Alexander JE, Colyer A, Haydock RM, Hayek MG, Park J. Understanding how dogs age: Longitudinal analysis of markers of inflammation, immune function, and oxidative stress. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2018; 73: 720-8.

Alijotas-Reig J, Llurba E, Gris JM. Potentiating maternal immune tolerance in pregnancy: A new challenging role for regulatory T cells. *Placenta* 2014; 35: 241-8.

Alizadeh M, Rodriguez-Lecompte JC, Echeverry H, Crow GH, Slominski BA. Effect of yeast-derived products and distillers dried grains with solubles (DDGS) on antibody-mediated immune response and gene expression of pattern recognition receptors and cytokines in broiler chickens immunized with T-cell dependent antigens. *Poult Sci* 2016; 95: 823-33.



Almendra C, Pinto O, Carmichael L, Tavares L. Determinação dos níveis de imunidade humoral induzidos pela vacinação contra a esgana e a parvovirose caninas. *RPCV* 2005; 100: 75-84.

Altman KD, Kelman M, Ward MP. Are vaccine strain, type or administration protocol risk factors for canine parvovirus vaccine failure? *Vet Microbiol* 2017; 210: 8-16.

Amanna IJ, Carlson NE, Slifka MK. Duration of humoral immunity to common viral and vaccine antigens. *N Engl J Med* 2007; 357: 1903-15.

Ambrosino DM, Molrine DC. Critical appraisal of immunization strategies for prevention of infection in the compromised host. *Hematol Oncol Clin North Am* 1993; 7: 1027-50.

American Type Culture Collection (ATCC). MDCK (NBL-2) (ATCC® CCL-34™): General information and characteristics. 2019. Verfügbar unter: <https://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/CCL-34.aspx> [abgerufen am 07.09.2019].

American Veterinary Society of Animal Behavior (AVSAB). Position statement on puppy socialization. 2008. Verfügbar unter: <https://avsab.org/resources/position-statements/> [abgerufen am 03.05.2019].

Ammersbach MA, Kruth SA, Sears W, Bienzle D. The effect of glucocorticoids on canine lymphocyte marker expression and apoptosis. *J Vet Intern Med* 2006; 20: 1166-71.

Amrani N, Desario C, Kadiri A, Cavalli A, Berrada J, Zro K, Sebbar G, Colaianni ML, Parisi A, Elia G, Buonavoglia C, Malik J, Decaro N. Molecular epidemiology of canine parvovirus in Morocco. *Infect Genet Evol* 2016; 41: 201-6.

Andrews N, Stowe J, Al-Shahi Salman R, Miller E. Guillain-Barré syndrome and

H1N1 (2009) pandemic influenza vaccination using an AS03 adjuvanted vaccine in the United Kingdom: Self-controlled case series. *Vaccine* 2011; 29: 7878-82.

Appel MJ, Cooper BJ, Greisen H, Scott F, Carmichael LE. Canine viral enteritis. I. Status report on corona- and parvo-like viral enteritides. *Cornell Vet* 1979a; 69: 123-33.

Appel MJ, Scott FW, Carmichael LE. Isolation and immunisation studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *Vet Rec* 1979b; 105: 156-9.

Appel MJG, Carmichael LE. Canine parvovirus vaccine. Internationales Patent WO1980001243A1. Cornell Research Foundation, Inc., Ithaca, N. Y., USA. 1980a. Verfügbar unter: <https://patents.google.com/patent/WO1980001243A1> [abgerufen am 28.08.2019].

Appel MJG, Carmichael LE. Heterotypic canine parvovirus vaccine. Internationales Patent WO1980001644A1. Cornell Research Foundation, Inc., Ithaca, N. Y., USA. 1980b. Verfügbar unter: <https://patents.google.com/patent/WO1980001644A1> [abgerufen am 28.08.2019].

Appel MJG, Carmichael LE, McGregor DD, Pollock RV. Canine parvovirus vaccination. *Mod Vet Pract* 1980a; 61: 983-5.

Appel M, Meunier P, Pollock R, Greisen H, Carmichael L, Glickman L. Canine viral enteritis, a report to practitioners. *Canine Pract* 1980b; 7: 22-36.

Appel MJG, Carmichael LE. Can a commercial vaccine protect pups against a recent field isolate of parvovirus? *Vet Med* 1987; 82: 1091-4.

Appel MJG. Forty years of canine vaccination, in: Canine and feline vaccines. In: *Advances in Veterinary Medicine, Volume 41, Veterinary Vaccines and Diagnostics*. Schultz RD, ed. San Diego, Kalifornien, USA: Academic Press 1999:

309-24.

Arredouani MS. New insights into androgenic immune regulation. *Oncoimmunology* 2014; 3: e954968.

Ärzte Zeitung online. Elektronen ersetzen giftiges Formaldehyd. 2019. Verfügbar unter:

<https://www.aerztezeitung.de/medizin/krankheiten/infektionskrankheiten/impfen/article/978953/tot-impfstoffe-elektronen-ersetzen-giftiges-formaldehyd.html>

[abgerufen am 04.01.2019].

Ashcraft KA, Bonneau RH. Psychological stress exacerbates primary vaginal herpes simplex virus type 1 (HSV-1) infection by impairing both innate and adaptive immune responses. *Brain Behav Immun* 2008; 22: 1231-40.

Asthana P, Vong JS, Kumar G, Chang RC, Zhang G, Sheikh KA, Ma CH. Dissecting the role of anti-ganglioside antibodies in Guillain-Barré syndrome: An animal model approach. *Mol Neurobiol* 2015; 53: 4981-91.

Axthelm MK, Krakowka S. Canine distemper virus-induced thrombocytopenia. *Am J Vet Res* 1987; 48: 1269-75.

Azetaka M, Hirasawa T, Konishi S, Ogata M. Studies on canine parvovirus isolation, experimental infection and serologic survey. *Nihon Juigaku Zasshi* 1981; 43: 243-55.

Azuma E, Nagai M, Qi J, Umemoto M, Hirayama M, Kumamoto T, Hiratake S, Komada Y, Sakurai M. CD4<sup>+</sup> T-lymphocytopenia in long-term survivors following intensive chemotherapy in childhood cancers. *Med Pediatr Oncol* 1998; 30: 40-5.

Babiuk LA. Heterologous vaccines, in: Categories of products (mechanism of action, advantages/disadvantages). In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier

Science B. V. 1997a: 264-5, Referenzen: 278-84.

Babiuk LA. Recombinant vaccines, in: Categories of products (mechanism of action, advantages/disadvantages). In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997b: 265-7, Referenzen: 278-84.

Bagshaw C, Isdell AE, Thiruvaiyaru DS, Brisbin IL, Jr., Sanchez S. Molecular detection of canine parvovirus in flies (Diptera) at open and closed canine facilities in the eastern United States. *Prev Vet Med* 2014; 114: 276-84.

Baldwin DR, Wilcox ZC, Zheng G. The effects of voluntary exercise and immobilization on humoral immunity and endocrine responses in rats. *Physiol Behav* 1997; 61: 447-53.

Banks KL. Changes in the immune response related to age. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1981; 11: 683-8.

Banse HE, McKenzie EC, Nelson S, Hinchcliff KW. Assessment of serum antibody titers against canine distemper virus, canine adenovirus type II, and canine parvovirus in Alaskan sled dogs before and after a long-distance race. *J Am Vet Med Assoc* 2008; 232: 1669-73.

Barbarroja-Escudero J, Sánchez-González MJ, Vélez D, Aboín S, Rodríguez-Rodríguez M, Alvarez-Mon M. Leukocytoclastic vasculitis after influenza vaccination: An allergy assessment. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2018; 28: 417-8.

Barratt-Boyes S, Golde WT. Antiviral immunity and virus vaccines. In: Fenner's Veterinary Virology, 5th edn. MacLachlan NJ, Dubovi EJ, Barthold SW, Swayne DE, Winton JR, eds. London, United Kingdom: Academic Press, Imprint of Elsevier 2017: 79-104.

Bass EP, Gill MA, Beckenhauer WH. Development of a modified live, canine origin parvovirus vaccine. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 181: 909-13.

Bastianello SS. Canine parvovirus myocarditis: Clinical signs and pathological lesions encountered in natural cases. *J S Afr Vet Assoc* 1981; 52: 105-8.

Bauer ME, Fuente Mde L. The role of oxidative and inflammatory stress and persistent viral infections in immunosenescence. *Mech Ageing Dev* 2016; 158: 27-37.

Bayry J, Lacroix-Desmazes S, Kazatchkine MD, Kaveri SV. Intravenous immunoglobulin for infectious diseases: Back to the pre-antibiotic and passive prophylaxis era? *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25: 306-10.

Beale KM, Halliwell RE, Chen CL. Prevalence of antithyroglobulin antibodies detected by enzyme-linked immunosorbent assay of canine serum. *J Am Vet Med Assoc* 1990; 196: 745-8.

Beam TR, Jr., Crigler ED, Goldman JK, Schiffman G. Antibody response to polyvalent pneumococcal polysaccharide vaccine in diabetics. *JAMA* 1980; 244: 2621-4.

Bell SC, Carter SD, Bennett D. Canine distemper viral antigens and antibodies in dogs with rheumatoid arthritis. *Res Vet Sci* 1991; 50: 64-8.

Belsare AV, Vanak AT, Gompper ME. Epidemiology of viral pathogens of free-ranging dogs and Indian foxes in a human-dominated landscape in central India. *Transbound Emerg Dis* 2014; 61: 78-86.

Bendich A. Carotenoids and the immune response. *J Nutr* 1989; 119: 112-5.

Benisheva T, Sovová V, Ivanov I, Opalchenova G. Comparison of methods used for detection of mycoplasma contamination in cell cultures, sera, and live-virus

vaccines. *Folia Biol (Praha)* 1993; 39: 270-6.

Bennett D, Gaskell RM, Mills A, Knowles J, Carter S, McArdle F. Detection of feline calicivirus antigens in the joints of infected cats. *Vet Rec* 1989; 124: 329-32.

Bennett S, Riley EM. The statistical analysis of data from immunoepidemiological studies. *J Immunol Methods* 1992; 146: 229-39.

Benz R, Krause M, Taverna C. Immune thrombocytopenic purpura reactivation after tick-borne encephalitis vaccination. *Vaccine* 2009; 27: 5172-3.

Bergman JG, Muniz M, Sutton D, Fensome R, Ling F, Paul G. Comparative trial of the canine parvovirus, canine distemper virus and canine adenovirus type 2 fractions of two commercially available modified live vaccines. *Vet Rec* 2006; 159: 733-6.

Bergmann M, Friedl Y, Hartmann K. Passive Immunisierung bei Hund und Katze. *Tierarztl Prax Ausg K* 2016; 44: 287-92.

Bergmann M, Schwertler S, Speck S, Truyen U, Reese S, Hartmann K. Faecal shedding of parvovirus deoxyribonucleic acid following modified live feline panleucopenia virus vaccination in healthy cats. *Vet Rec* 2019; 185: 83.

Bertolizio G, Astuto M, Ingelmo P. The implications of immunization in the daily practice of pediatric anesthesia. *Curr Opin Anaesthesiol* 2017; 30: 368-75.

Bertuola F, Morando C, Menniti-Ippolito F, Da Cas R, Capuano A, Perilongo G, Da Dalt L. Association between drug and vaccine use and acute immune thrombocytopenia in childhood: A case-control study in Italy. *Drug Saf* 2010; 33: 65-72.

Bexfield NH, Villiers EJ, Herrtage ME. Immune-mediated haemolytic anaemia and thrombocytopenia associated with *Anaplasma phagocytophilum* in a dog. *J Small*

Anim Pract 2005; 46: 543-8.

Black C, Kaye JA, Jick H. MMR vaccine and idiopathic thrombocytopaenic purpura. Br J Clin Pharmacol 2003; 55: 107-11.

Black JW, Holscher MA, Powell HS, Byerly CS. Parvoviral enteritis and panleukopenia in dogs. Vet Med Small Anim Clin 1979; 74: 47-50.

Blancou J, Milward F, Toma B. Vaccination against rabies in carnivores treated with corticoids. Rec Med Vet 1981: 631-57.

Blecha F, Kelley KW, Satterlee DG. Adrenal involvement in the expression of delayed-type hypersensitivity to SRBC and contact sensitivity to DNFB in stressed mice. Proc Soc Exp Biol Med 1982; 169: 247-52.

Blecha F, Minocha HC. Suppressed lymphocyte blastogenic responses and enhanced in vitro growth of infectious bovine rhinotracheitis virus in stressed feeder calves. Am J Vet Res 1983; 44: 2145-8.

Blixenkrone-Møller M, Svansson V, Have P, Orvell C, Appel M, Pedersen IR, Dietz HH, Henriksen P. Studies on manifestations of canine distemper virus infection in an urban dog population. Vet Microbiol 1993; 37: 163-73.

Blount DG, Pritchard DI, Heaton PR. Age-related alterations to immune parameters in Labrador Retriever dogs. Vet Immunol Immunopathol 2005; 108: 399-407.

Boa-Amponsem K, Price SE, Geraert PA, Picard M, Siegel PB. Antibody responses of hens fed vitamin E and passively acquired antibodies of their chicks. Avian Dis 2001; 45: 122-7.

Boa-Amponsem K, Picard M, Blair ME, Meldrum B, Siegel PB. Memory antibody responses of broiler and leghorn chickens as influenced by dietary vitamin E and route of sheep red blood cell administration. Poult Sci 2006; 85: 173-7.

Böhm M, Thompson H, Weir A, Hasted AM, Maxwell NS, Herrtage ME. Serum antibody titres to canine parvovirus, adenovirus and distemper virus in dogs in the UK which had not been vaccinated for at least three years. *Vet Rec* 2004; 154: 457-63.

Böhm M. Current vaccination strategies in dogs and cats. *In Pract* 2009; 31: 2-7.

Bolin SR, Black JW, Frey ML, Katz JB, Ridpath JF, Roblin RO. Detection of a cell line contaminated with hog cholera virus. *J Am Vet Med Assoc* 1994a; 205: 742-5.

Bolin SR, Ridpath JF, Black J, Macy M, Roblin R. Survey of cell lines in the American Type Culture Collection for bovine viral diarrhea virus. *J Virol Methods* 1994b; 48: 211-21.

Bönsch C, Kempf C, Ros C. Interaction of parvovirus B19 with human erythrocytes alters virus structure and cell membrane integrity. *J Virol* 2008; 82: 11784-91.

Boonchuvit B, Hamilton PB. Interaction of aflatoxin and paratyphoid infections in broiler chickens. *Poult Sci* 1975; 54: 1567-73.

Boretti FS, Breyer-Haube I, Kaspers B, Reusch CE. Klinische, hamatologische, biochemische und endokrinologische Aspekte bei 32 Hunden mit Hypothyreose. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2003; 145: 149-56, Referenzen: 58-9.

Bouchard G, Plata-Madrid H, Youngquist RS, Buening GM, Ganjam VK, Krause GF, Allen GK, Paine AL. Absorption of an alternate source of immunoglobulin in pups. *Am J Vet Res* 1992; 53: 230-3.

Bourne FJ, Curtis J. The transfer of immunoglobins IgG, IgA and IgM from serum to colostrum and milk in the sow. *Immunology* 1973; 24: 157-62.

Bourque PR, Chardon JW, Massie R. Autoimmune peripheral neuropathies. *Clin Chim Acta* 2015; 449: 37-42.



Braf ZF, Hume DM. Prolongation of functional survival of second-set canine renal homografts using antithymocyte serum: Preliminary report. *Surgery* 1969; 66: 594-6.

Bragg RF, Duffy AL, DeCecco FA, Chung DK, Green MT, Veir JK, Dow SW. Clinical evaluation of a single dose of immune plasma for treatment of canine parvovirus infection. *J Am Vet Med Assoc* 2012; 240: 700-4.

Brinke N, Neiger R. Der Einfluss einer Parvovirusinfektion und anderer Parameter auf das Überleben von Hunden mit blutigem Durchfall. *Kleintierprax* 2010; 55: 417-22.

Brisbin JT, Gong J, Lusty CA, Sabour P, Sanei B, Han Y, Shewen PE, Sharif S. Influence of in-feed virginiamycin on the systemic and mucosal antibody response of chickens. *Poult Sci* 2008; 87: 1995-9.

Brisbin JT, Gong J, Orouji S, Esufali J, Mallick AI, Parvizi P, Shewen PE, Sharif S. Oral treatment of chickens with lactobacilli influences elicitation of immune responses. *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18: 1447-55.

British medical journal. Antilymphocyte serum. *British medical journal* 1968; 2: 507-8.

Bronson E, Emmons LH, Murray S, Dubovi EJ, Deem SL. Serosurvey of pathogens in domestic dogs on the border of Noël Kempff Mercado National Park, Bolivia. *J Zoo Wildl Med* 2008; 39: 28-36.

Brooks R. Adverse reactions to canine and feline vaccines. *Aust Vet J* 1991; 68: 342-4.

Broussou D, Mila H, Grellet A, Feugier A, Mariani C, Pingret J-L, Boucraut-Baralon C, Chastant-Maillard S. Excretion of canine parvovirus type 2 (CPV-2) during gestation and lactation in bitches and puppies. 8th International Symposium

on Canine and Feline Reproduction (ISCFR), Paris, Frankreich 2016. 115.

Bruckner L. Duration of protection in animals: The point of view of regulators. J Comp Pathol 2010; 142 Suppl 1: S109-10.

Brunner CJ, Swango LJ. Canine parvovirus infection: Effects on the immune system and factors that predispose to severe disease. Compend Contin Educ Pract Vet 1985; 7: 979-89.

Bublott M, Pritchard N, Le Gros FX, Goutebroze S. Use of a vectored vaccine against infectious bursal disease of chickens in the face of high-titred maternally derived antibody. J Comp Pathol 2007; 137: S81-4.

Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz, Bundesamt für Justiz. Verordnung über Sera, Impfstoffe und Antigene nach dem Tiergesundheitsgesetz (Tierimpfstoff-Verordnung, TierImpfStV) vom 24.10.2006, die zuletzt durch Artikel 135 des Gesetzes vom 29.03.2017 (BGBl. I S. 626) geändert worden ist. 2006. Verfügbar unter: [https://www.gesetze-im-internet.de/tierimpfstv\\_2006/BJNR235500006.html](https://www.gesetze-im-internet.de/tierimpfstv_2006/BJNR235500006.html) [abgerufen am 28.08.2019].

Bundesministerium für Ernährung Landwirtschaft und Verbraucherschutz. Gesetz zur Vorbeugung vor und Bekämpfung von Tierseuchen (Tiergesundheitsgesetz, TierGesG) vom 27.03.2013, in der Fassung der Bekanntmachung vom 21.11.2018 (BGBl. I S. 1938). 2013. Verfügbar unter: <https://www.gesetze-im-internet.de/tiergesg/BJNR132400013.html> [abgerufen am 31.08.2019].

Buonavoglia C, Tollis M, Buonavoglia D, Puccini A. Response of pups with maternal derived antibody to modified-live canine parvovirus vaccine. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 1992; 15: 281-3.

Buonavoglia C, Cavalli A, Gravino E, Voigt V, Buonavoglia D, de Caprariis D. Intranasal vaccination of pups with maternally derived antibodies with a modified live canine parvovirus. Zentralbl Veterinarmed B 1994; 41: 3-8.

Buonavoglia C, Cavalli A, Tempesta M, Voight V, Buonavoglia D, Corrente M, Sagazio P. Intranasal vaccination of pups in the presence of maternally derived antibodies to canine parvovirus (CPV). Evaluation of minimal immunizing dose. *New Microbiol* 1995; 18: 371-5.

Buonavoglia C, Martella V, Pratelli A, Tempesta M, Cavalli A, Buonavoglia D, Bozzo G, Elia G, Decaro N, Carmichael L. Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. *J Gen Virol* 2001; 82: 3021-5.

Burgess K, Moore A, Rand W, Cotter SM. Treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs with cyclophosphamide. *J Vet Intern Med* 2000; 14: 456-62.

Burns EA. Effects of aging on immune function. *J Nutr Health Aging* 2004; 8: 9-18.

Burns VE, Drayson M, Ring C, Carroll D. Perceived stress and psychological well-being are associated with antibody status after meningitis C conjugate vaccination. *Psychosom Med* 2002; 64: 963-70.

Burr PD, Snodgrass DR. Serological response to rabies vaccination for the Pet Travel Scheme. 56th Annual Conference on Current Topics on Veterinary Science of the Association of Veterinary Teachers and Research Workers, Scarborough, United Kingdom 2002. *Res Vet Sci* 2002; 72: S25.

Burr P, Snodgrass D. Demystifying diagnostic testing: Serology. *In Pract* 2004; 26: 498-502.

Burr P. Serological testing—an alternative to boosters? *Vet Microbiol* 2006; 117: 39-42.

Burtonboy G, Coignoul F, Delferriere N, Pastoret PP. Canine hemorrhagic enteritis: Detection of viral particles by electron microscopy. *Arch Virol* 1979; 61: 1-11.

Burtonboy S, Charlier P, Hertoghs J, Lobmann M, Wiseman A, Woods S. Performance of high titre attenuated canine parvovirus vaccine in pups with maternally derived antibody. *Vet Rec* 1991; 128: 377-81.

Bush M, Montali RJ, Brownstein D, James AE, Jr., Appel MJ. Vaccine-induced canine distemper in a lesser panda. *J Am Vet Med Assoc* 1976; 169: 959-60.

Büttner M. Impfstoffe gegen Viruskrankheiten, in: Allgemeine Virologie. In: Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, 8., überarbeitete edn. Mayr A, ed. Stuttgart, Deutschland: Enke Verlag in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG 2007: 106-11.

Calaminus G, Hense B, Laws HJ, Groeger M, MacKenzie CR, Göbel U. Diphtheria (D) and tetanus (T) antibody values in children with acute lymphoblastic leukaemia (ALL) after treatment according to Co-ALL 05/92. *Klin Padiatr* 2007; 219: 355-60.

Calatayud O, Esperón F, Cleaveland S, Biek R, Keyyu J, Eblate E, Neves E, Lembo T, Lankester F. Carnivore parvovirus ecology in the Serengeti ecosystem: Vaccine strains circulating and new host species identified. *J Virol* 2019; 93: e02220-18.

Calderon MG, Mattion N, Bucafusco D, Fogel F, Remorini P, La Torre J. Molecular characterization of canine parvovirus strains in Argentina: Detection of the pathogenic variant CPV2c in vaccinated dogs. *J Virol Methods* 2009; 159: 141-5.

Caldwell JL, Stites DP, Fudenberg HH. Human chorionic gonadotropin: Effects of crude and purified preparations on lymphocyte responses to phytohemagglutinin and allogeneic stimulation. *J Immunol* 1975; 115: 1249-53.

Calvert CA, Dawe D, Leifer CE, Brown J. Lymphocyte blastogenesis in dogs with lymphosarcoma. *Am J Vet Res* 1982; 43: 94-101.

Cao S, Sun D. Leucocytoclastic vasculitis following influenza vaccination. *BMJ Case Rep* 2017; 2017: bcr2016217755.

Cao SX, Dhahbi JM, Mote PL, Spindler SR. Genomic profiling of short- and long-term caloric restriction effects in the liver of aging mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 10630-5.

Carman PS, Povey RC. The seroprevalence of canine parvovirus-2 in a selected sample of the canine population in Ontario. *Can Vet J* 1984; 25: 259-62.

Carman S, Povey C. Successful experimental challenge of dogs with canine parvovirus-2. *Can J Comp Med* 1982a; 46: 33-8.

Carman S, Povey C. The failure of an inactivated mink enteritis virus vaccine in four preparations to provide protection to dogs against challenge with canine parvovirus-2. *Can J Comp Med* 1982b; 46: 47-50.

Carmichael LE, Medic BL, Bistner SI, Aguirre GD. Viral-antibody complexes in canine adenovirus type 1 (CAV-1) ocular lesions: Leukocyte chemotaxis and enzyme release. *Cornell Vet* 1975; 65: 331-51.

Carmichael LE, Joubert JC, Pollock RV. Hemagglutination by canine parvovirus: Serologic studies and diagnostic applications. *Am J Vet Res* 1980; 41: 784-91.

Carmichael LE, Binn LN. New enteric viruses in the dog. *Adv Vet Sci Comp Med* 1981; 25: 1-37.

Carmichael LE, Appel MJG, McGregor DD. Modified living canine parvovirus vaccine. Internationales Patent WO1981002978A1. Cornell Research Foundation Inc., Ithaca, N. Y., USA. 1981a. Verfügbar unter: <https://patents.google.com/patent/WO1981002978A1> [abgerufen am 28.08.2019].

Carmichael LE, Joubert JC, Pollock RV. A modified live canine parvovirus strain with novel plaque characteristics. I. Viral attenuation and dog response. *Cornell Vet* 1981b; 71: 408-27.

Carmichael LE. Immunization strategies in puppies—why failures? *Compend Contin Educ Pract Vet* 1983; 5: 1043-52.

Carmichael LE, Joubert JC, Pollock RV. A modified live canine parvovirus vaccine. II. Immune response. *Cornell Vet* 1983; 73: 13-29.

Carmichael LE, Pollock RV, Joubert JC. Response of puppies to canine-origin parvovirus vaccines. *Mod Vet Pract* 1984; 65: 99-102.

Carmichael LE. Canine parvovirus immunization: "Myths and realities". *Am Kennel Club Gaz* 1989; Decembers: 94-102.

Carmichael LE. Vaccines for dogs, in: Categories of vaccines according to their target species. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997: 326-35.

Carmichael LE. Canine viral vaccines at a turning point—a personal perspective, in: Canine and feline vaccines. In: *Advances in Veterinary Medicine, Volume 41, Veterinary Vaccines and Diagnostics*. Schultz RD, ed. San Siego, Kalifornien, USA: Academic Press 1999: 289-307.

Carpenter JW, Appel MJ, Erickson RC, Novilla MN. Fatal vaccine-induced canine distemper virus infection in black-footed ferrets. *J Am Vet Med Assoc* 1976; 169: 961-4.

Carr AP, Panciera DL, Kidd L. Prognostic factors for mortality and thromboembolism in canine immune-mediated hemolytic anemia: A retrospective study of 72 dogs. *J Vet Intern Med* 2002; 16: 504-9.

Carroll EE, Dubielzig RR, Schultz RD. Cats differ from mink and ferrets in their response to commercial vaccines: A histologic comparison of early vaccine reactions. *Vet Pathol* 2002; 39: 216-27.

Casal ML, Jezyk PF, Giger U. Transfer of colostral antibodies from queens to their kittens. *Am J Vet Res* 1996; 57: 1653-8.

Castanheira P, Duarte A, Gil S, Cartaxeiro C, Malta M, Vieira S, Tavares L. Molecular and serological surveillance of canine enteric viruses in stray dogs from Vila do Maio, Cape Verde. *BMC Vet Res* 2014; 10: 91.

Castro TX, Miranda SC, Labarthe NV, Silva LE, Cubel Garcia RCN. Clinical and epidemiological aspects of canine parvovirus (CPV) enteritis in the State of Rio de Janeiro: 1995 – 2004. *Arq Bras Med Vet Zoo* 2007; 59: 333-9.

Cavalli A, Bozzo G, Decaro N, Tinelli A, Aliberti A, Buonavoglia D. Characterization of a canine parvovirus strain isolated from an adult dog. *New Microbiol* 2001; 24: 239-42.

Cavalli A, Martella V, Desario C, Camero M, Bellacicco AL, De Palo P, Decaro N, Elia G, Buonavoglia C. Evaluation of the antigenic relationships among canine parvovirus type 2 variants. *Clin Vaccine Immunol* 2008; 15: 534-9.

Cecinati V, Principi N, Brescia L, Giordano P, Esposito S. Vaccine administration and the development of immune thrombocytopenic purpura in children. *Hum Vaccin Immunother* 2013; 9: 1158-62.

Centers for Disease Control and Prevention. Preliminary results: Surveillance for Guillain-Barré syndrome after receipt of influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccine - United States, 2009-2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010; 59: 657-61.

Centers for Disease Control and Prevention. Flu vaccine and people with egg allergies. 2017. Verfügbar unter: <https://www.cdc.gov/flu/protect/vaccine/egg-allergies.htm> [abgerufen am 01.09.2019].

Cerni C, Tatra G, Bohn H. Immunosuppression by human placenta lactogen (HPL)

and the pregnancy-specific beta 1-glycoprotein (SP-1). Inhibition of mitogen-induced lymphocyte transformation. Arch Gynakol 1977; 223: 1-7.

Chalmers WS. Overview of new vaccines and technologies. Vet Microbiol 2006; 117: 25-31.

Chan OT, Yang LX. The immunological effects of taxanes. Cancer Immunol Immunother 2000; 49: 181-5.

Chapek ML, McClaughry LE, Wilkins LM. Efficiency and safety of an inactivated feline parvovirus vaccine against canine parvovirus infection. Mod Vet Pract 1980; 61: 261-3.

Chapek ML, Strauss A, Marshall RF, McClaughry LE. Duration of immunity in dogs inoculated with an inactivated feline parvovirus vaccine. Vet Med Small Anim Clin 1981; 76: 1319-24.

Chappuis G, Duret C. Innocuité et antigenicité pour le chien d'un vaccin à virus vivant de la panleucopénie féline. Le Point Vet 1980; 10: 77-9.

Chappuis G. Neonatal immunity and immunisation in early age: Lessons from veterinary medicine. Vaccine 1998; 16: 1468-72.

Chastain CB, Young DW, Kemppainen RJ. Anti-triiodothyronine antibodies associated with hypothyroidism and lymphocytic thyroiditis in a dog. J Am Vet Med Assoc 1989; 194: 531-4.

Chastant-Maillard S, Marcheteau E, Freyburger L, Fontbonne A, Bergamo P, Ravier JF, Reynaud K. Identification and quantification of immunoglobulins in canine colostrum – quantification of colostral transfer. 7th Congress of the European Veterinary Society for Small Animal Reproduction (EVSSAR), Louvain-La-Neuve, Frankreich 2010. 107.



Chastant-Maillard S, Freyburger L, Marcheteau E, Thoumire S, Ravier JF, Reynaud K. Timing of the intestinal barrier closure in puppies. *Reprod Domest Anim* 2012; 47 190-3.

Chastant-Maillard S, Mila H. Canine colostrum. *Veterinary Focus* 2016; 26: 32-8.

Chastant-Maillard S, Aggouni C, Mila H. Canine and feline colostrum: Composition and modulation. 8th International Symposium on Canine and Feline Reproduction (ISCFR), Paris, Frankreich 2016. 49.

Chastant-Maillard S, Aggouni C, Albaret A, Fournier A, Mila H. Canine and feline colostrum. *Reprod Domest Anim* 2017; 52: 148-52.

Chen KL, Tsay SM, Chiou PW, Chen TW, Weng BC. Effects of caponization and testosterone implantation on immunity in male chickens. *Poult Sci* 2009; 88: 1832-7.

Chen KL, Tsay SM, Chiou PW, Sun CP, Weng BC. Effects of caponization and different forms of exogenous androgen implantation on immunity in male chicks. *Poult Sci* 2010; 89: 887-94.

Chen X, Bailleux F, Desai K, Qin L, Dunning AJ. A threshold method for immunological correlates of protection. *BMC Med Res Methodol* 2013; 13: 29.

Cheng HW, Fahey A. Effects of group size and repeated social disruption on the serotonergic and dopaminergic systems in two genetic lines of White Leghorn laying hens. *Poult Sci* 2009; 88: 2018-25.

Cheville NF. Environmental factors affecting the immune response of birds: A review. *Avian Dis* 1979; 23: 308-14.

Chew BP, Park JS, Wong TS, Weng BBC, Kim HW, Byrne KM, Hajek MG, Reinhart GA. Importance of beta-carotene nutrition in the dog and cat: Uptake and

immunity. In: Recent Advances in Canine and Feline Nutrition, vol. II, IAMS Nutrition Symposium Proceedings. Carey DP, Reinhart GA, eds. Wilmington, Ohio, USA: Orange Frazer Press 1998: 513-22.

Chiang SY, Wu HY, Chiou MT, Chang MC, Lin CN. Identification of a novel canine parvovirus type 2c in Taiwan. *Virology* 2016; 13: 160.

Chinchkar SR, Mohana Subramanian B, Hanumantha Rao N, Rangarajan PN, Thiagarajan D, Srinivasan VA. Analysis of VP2 gene sequences of canine parvovirus isolates in India. *Arch Virology* 2006; 151: 1881-7.

Churchill AE. Preliminary development of a live attenuated canine parvovirus vaccine from an isolate of British origin. *Vet Rec* 1987; 120: 334-9.

Claus MA, Levy JK, MacDonald K, Tucker SJ, Crawford PC. Immunoglobulin concentrations in feline colostrum and milk, and the requirement of colostrum for passive transfer of immunity to neonatal kittens. *J Feline Med Surg* 2006; 8: 184-91.

Clegg SR, Coyne KP, Dawson S, Spibey N, Gaskell RM, Radford AD. Canine parvovirus in asymptomatic feline carriers. *Vet Microbiology* 2012; 157: 78-85.

Clements DN, Gear RN, Tattersall J, Carmichael S, Bennett D. Type I immune-mediated polyarthritis in dogs: 39 cases (1997-2002). *J Am Vet Med Assoc* 2004; 224: 1323-7.

Cliquet F, Verdier Y, Sagne L, Aubert M, Schereffer JL, Selve M, Wasniewski M, Servat A. Neutralising antibody titration in 25,000 sera of dogs and cats vaccinated against rabies in France, in the framework of the new regulations that offer an alternative to quarantine. *Rev Sci Tech* 2003; 22: 857-66.

Coe CL, Rosenberg LT, Fischer M, Levine S. Psychological factors capable of preventing the inhibition of antibody responses in separated infant monkeys. *Child*

Dev 1987; 58: 1420-30.

Cohen AD, Shoenfeld Y. Vaccine-induced autoimmunity. J Autoimmun 1996; 9: 699-703.

Cohen BJ, Buckley MM, Clewley JP, Jones VE, Puttick AH, Jacoby RK. Human parvovirus infection in early rheumatoid and inflammatory arthritis. Ann Rheum Dis 1986; 45: 832-8.

Collins JR. Seizures and other neurologic manifestations of allergy. Vet Clin North Am Small Anim Pract 1994; 24: 735-48.

Colpan M, Schorr J, Baker HJ, Smith BF. Nucleic acid vaccination for parvoviral infections Internationales Patent WO1997040163A1. 1997. Verfügbar unter: <https://patents.google.com/patent/WO1997040163A1> [abgerufen am 28.08.2019].

Contractor SF, Davies H. Effect of human chorionic somatomammotrophin and human chorionic gonadotrophin on phytohaemagglutinin-induced lymphocyte transformation. Nat New Biol 1973; 243: 284-6.

Cooper PE, Chappuis G, Saint-Gerand AL, Duret C. Comparaison de l'efficacité de différents vaccins du chien, utilisés sous forme monovalente ou associée, par évaluation des réponses sérologiques et après épreuves virulentes 12, 22 et 26 mois après vaccination. Bull Mens Soc Vet Prat Fr 1991; 75: 131-52.

Cornwell HJ, Thompson H, McCandlish IA, Macartney L, Nash AS. Encephalitis in dogs associated with a batch of canine distemper (Rockborn) vaccine. Vet Rec 1988; 122: 54-9.

Corrain R, Di Francesco A, Bolognini M, Ciucci P, Baldelli R, Guberti V. Serosurvey for CPV-2, distemper virus, ehrlichiosis and leishmaniosis in free-ranging dogs in Italy. Vet Rec 2007; 160: 91-2.

Cosio FG, Giebink GS, Le CT, Schiffman G. Pneumococcal vaccination in patients with chronic renal disease and renal allograft recipients. *Kidney Int* 1981; 20: 254-8.

Courtenay O, Quinnell RJ, Chalmers WS. Contact rates between wild and domestic canids: No evidence of parvovirus or canine distemper virus in crab-eating foxes. *Vet Microbiol* 2001; 81: 9-19.

Couto CG. Immunodeficiency in young Weimaraners. *Weimaraner Mg* 1988; September: 9-10.

Couto CG, Krakowka S, Johnson G, Ciekot P, Hill R, Lafrado L, Kociba G. In vitro immunologic features of Weimaraner dogs with neutrophil abnormalities and recurrent infections. *Vet Immunol Immunopathol* 1989; 23: 103-12.

Coyle PK, Wolinsky JS, Buimovici-Klein E, Moucha R, Cooper LZ. Rubella-specific immune complexes after congenital infection and vaccination. *Infect Immun* 1982; 36: 498-503.

Coyne KP, Jones BR, Kipar A, Chantrey J, Porter CJ, Barber PJ, Dawson S, Gaskell RM, Radford AD. Lethal outbreak of disease associated with feline calicivirus infection in cats. *Vet Rec* 2006; 158: 544-50.

Coyne MJ, Reeves NC, Rosen DK. Estimated prevalence of injection-site sarcomas in cats during 1992. *J Am Vet Med Assoc* 1997; 210: 249-51.

Coyne MJ, Burr JH, Yule TD, Harding MJ, Tresnan DB, McGavin D. Duration of immunity in dogs after vaccination or naturally acquired infection. *Vet Rec* 2001; 149: 509-15.

Crumlish PT, Sweeney T, Jones B, Angles JM. Hypertrophic osteodystrophy in the Weimaraner dog: Lack of association between DQA1 alleles of the canine MHC and hypertrophic osteodystrophy. *Vet J* 2006; 171: 308-13.

Cuddon PA. Electrophysiologic assessment of acute polyradiculoneuropathy in dogs: Comparison with Guillain-Barré syndrome in people. *J Vet Intern Med* 1998; 12: 294-303.

Culman J. Zytostatika (onkologische Erkrankungen). In: *Kurzlehrbuch Pharmakologie und Toxikologie*, 3., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage edn. Herdegen T, ed. Stuttgart, Deutschland: Georg Thieme Verlag KG 2014: 529-48.

Cummings JF, Haas DC. Animal model for human disease: Idiopathic polyneuritis, Guillain-Barré syndrome. Animal model: Coonhound paralysis, idiopathic polyradiculoneuritis of coonhounds. *Am J Pathol* 1972; 66: 189-92.

Cummings JF, de Lahunta A, Holmes DF, Schultz RD. Coonhound paralysis. Further clinical studies and electron microscopic observations. *Acta Neuropathol* 1982; 56: 167-78.

Curi NH, Araújo AS, Campos FS, Lobato ZIP, Gennari SM, Marvulo MFV, Silva JCR, Talamoni SA. Wild canids, domestic dogs and their pathogens in Southeast Brazil: Disease threats for canid conservation. *Biodivers Conserv* 2010; 19: 3513-24.

Curi NH, Massara RL, de Oliveira Paschoal AM, Soriano-Araújo A, Lobato ZIP, Demétrio GR, Chiarello AG, Passamani M. Prevalence and risk factors for viral exposure in rural dogs around protected areas of the Atlantic forest. *BMC Vet Res* 2016; 12: 21.

Curtis R, Barnett KC. The 'blue eye' phenomenon. *Vet Rec* 1983; 112: 347-53.

Cußler K, Schwedinger E. Pharmakovigilanz für Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit von Tierarzneimitteln, Nebenwirkungen nach Impfung von Deutschen Pinschern. *DTBI* 2012; 12: 1715-6.

Cußler K, Schwedinger E, Kirsch K. Das feline Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkom. Ein Update. DTBI 2012; 9: 1252-7.

Dalakas MC. Pathophysiology of autoimmune polyneuropathies. Presse Med 2013; 42: e181-92.

Dall'Ara P. Immune system and ageing in the dog: Possible consequences and control strategies. Vet Res Commun 2003; 27: 535-42.

Damber MG, Von Schoultz B, Stigbrand T, Tärnvik A. Inhibition of the mixed lymphocyte reaction by the pregnancy zone protein. FEBS Lett 1975; 58: 29-32.

Dantzer B, Fletcher QE, Boonstra R, Sheriff MJ. Measures of physiological stress: A transparent or opaque window into the status, management and conservation of species? Conserv Physiol 2014; 2: cou023.

Dantzer R, Kelley KW. Stress and immunity: An integrated view of relationships between the brain and the immune system. Life Sci 1989; 44: 1995-2008.

Dantzer R. Stress and immunity: What have we learned from psychoneuroimmunology? Acta Physiol Scand Suppl 1997; 640: 43-6.

Dantzer R, Cohen S, Russo SJ, Dinan TG. Resilience and immunity. Brain Behav Immun 2018; 74: 28-42.

Davies M. Canine parvovirus strains identified from clinically ill dogs in the United Kingdom. Vet Rec 2008; 163: 543-4.

Davila DR, Guilmette RA, Bice DE, Muggenburg BA, Swafford DS, Haley PJ. Long-term consequences of <sup>239</sup>PuO<sub>2</sub> exposure in dogs: Persistent T lymphocyte dysfunction. Int J Radiat Biol 1992; 61: 123-33.

Davis-Wurzler GM. 2013 update on current vaccination strategies in puppies and

kittens. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2014; 44: 235-63.

Dawson S, McArdle F, Bennett D, Carter SD, Bennett M, Ryvar R, Gaskell RM. Investigation of vaccine reactions and breakdowns after feline calicivirus vaccination. *Vet Rec* 1993; 132: 346-50.

Dawson S, Bennett D, Carter SD, Bennett M, Meanger J, Turner PC, Carter MJ, Milton I, Gaskell RM. Acute arthritis of cats associated with feline calicivirus infection. *Res Vet Sci* 1994; 56: 133-43.

Day MJ, Penhale WJ. Immune-mediated disease in the old English sheepdog. *Res Vet Sci* 1992; 53: 87-92.

Day MJ. Possible immunodeficiency in related Rottweiler dogs. *J Small Anim Pract* 1999; 40: 561-8.

Day MJ. Vaccine side effects: Fact and fiction. *Vet Microbiol* 2006; 117: 51-8.

Day MJ. Immune system development in the dog and cat. *J Comp Pathol* 2007a; 137: S10-5.

Day MJ. Vaccine safety in the neonatal period. *J Comp Pathol* 2007b; 137: S51-6.

Day MJ, Horzinek MC, Schultz RD. WSAVA Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *J Small Anim Pract* 2007a; 48: 528-41.

Day MJ, Schoon HA, Magnol JP, Saik J, Devauchelle P, Truyen U, Gruffydd-Jones TJ, Cozette V, Jas D, Poulet H, Pollmeier M, Thibault JC. A kinetic study of histopathological changes in the subcutis of cats injected with non-adjuvanted and adjuvanted multi-component vaccines. *Vaccine* 2007b; 25: 4073-84.

Day MJ. Ageing, immunosenescence and inflammageing in the dog and cat. *J Comp Pathol* 2010; 142: S60-9.

Day MJ, Horzinek MC, Schultz RD. WSAVA Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *J Small Anim Pract* 2010; 51: 1-32.

Day MJ. Vaccination of dogs and cats: No longer so controversial? *Vet Rec* 2011; 168: 480-2.

Day MJ. Utility of serum antibody assays to monitor protection and the need for vaccination. Pre-Congress Symposium of the 23rd Congress of the European College of Veterinary Internal Medicine – Companion Animals (ECVIM-CA), Liverpool, United Kingdom 2013. 23-5.

Day MJ. What we need to know about vaccination and titre testing. 2014. Verfügbar unter: <http://vaccicheck.com/wp-content/uploads/2014/02/Michael-Day> [abgerufen am 28.04.2019].

Day MJ, Schultz RD. Antigens and antibodies. In: *Veterinary Immunology – Principles and Practice*, 2nd edn. Day MJ, Schultz RD, eds. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press Taylor & Francis Group 2014a: 15-26.

Day MJ, Schultz RD. Serological testing. In: *Veterinary Immunology – Principles and Practice*, 2nd edn. Day MJ, Schultz RD, eds. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press Taylor & Francis Group 2014b: 39-50.

Day MJ, Schultz RD. The biology of T lymphocytes. In: *Veterinary Immunology – Principles and Practice*, 2nd edn. Day MJ, Schultz RD, eds. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press Taylor & Francis Group 2014c: 95-111.

Day MJ, Schultz RD. The biology of B lymphocytes. In: *Veterinary Immunology – Principles and Practice*, 2nd edn. Day MJ, Schultz RD, eds. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press Taylor & Francis Group 2014d: 113-24.

Day MJ, Schultz RD. Immune suppression. In: *Veterinary Immunology – Principles and Practice*, 2nd edn. Day MJ, Schultz RD, eds. Boca Raton, Florida, USA: CRC



Press Taylor & Francis Group 2014e: 131-8.

Day MJ, Schultz RD. Hypersensitivity mechanisms. In: *Veterinary Immunology – Principles and Practice*, 2nd edn. Day MJ, Schultz RD, eds. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press Taylor & Francis Group 2014f: 139-52.

Day MJ, Schultz RD. The immune response to infectious agents. In: *Veterinary Immunology – Principles and Practice*, 2nd edn. Day MJ, Schultz RD, eds. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press Taylor & Francis Group 2014g: 153-65.

Day MJ, Schultz RD. Cancer immunology and immune system neoplasia. In: *Veterinary Immunology – Principles and Practice*, 2nd edn. Day MJ, Schultz RD, eds. Boca Raton, Florida USA: CRC Press Taylor & Francis Group 2014h: 167-79.

Day MJ, Schultz RD. Immunological tolerance. In: *Veterinary Immunology – Principles and Practice*, 2nd edn. Day MJ, Schultz RD, eds. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press Taylor & Francis Group 2014i: 181-6.

Day MJ, Schultz RD. Autoimmunity and autoimmune disease. In: *Veterinary Immunology – Principles and Practice*, 2nd edn. Day MJ, Schultz RD, eds. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press Taylor & Francis Group 2014j: 187-99.

Day MJ, Schultz RD. Immune system ontogeny and neonatal immunology. In: *Veterinary Immunology – Principles and Practice*, 2nd edn. Day MJ, Schultz RD, eds. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press Taylor & Francis Group 2014k: 213-20.

Day MJ, Schultz RD. Immunodeficiency. In: *Veterinary Immunology – Principles and Practice*, 2nd edn. Day MJ, Schultz RD, eds. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press Taylor & Francis Group 2014l: 221-31.

Day MJ, Schultz RD. Vaccination. In: *Veterinary Immunology – Principles and Practice*, 2nd edn. Day MJ, Schultz RD, eds. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press

Taylor & Francis Group 2014m: 233-47.

Day MJ, Schultz RD. Immunotherapy. In: *Veterinary Immunology – Principles and Practice*, 2nd edn. Day MJ, Schultz RD, eds. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press Taylor & Francis Group 2014n: 249-63.

Day MJ, Horzinek MC, Schultz RD, Squires RA. WSAVA Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *J Small Anim Pract* 2016; 57: E1-E45.

De Cramer KG, Stylianides E, van Vuuren M. Efficacy of vaccination at 4 and 6 weeks in the control of canine parvovirus. *Vet Microbiol* 2011; 149: 126-32.

De Groot J, Moonen-Leusen HWM, Thomas G, Bianchi ATJ, Koolhaas JM, Van Milligen FJ. Effects of mild stress on the immune response against pseudorabies virus in mice. *Vet Immunol Immunopathol* 1999; 67: 153-60.

De Groot J, Ruis MA, Scholten JW, Koolhaas JM, Boersma WJ. Long-term effects of social stress on antiviral immunity in pigs. *Physiol Behav* 2001; 73: 145-58.

De la Fuente M, Ferrández MD, Burgos MS, Soler A, Prieto A, Miquel J. Immune function in aged women is improved by ingestion of vitamins C and E. *Can J Physiol Pharmacol* 1998; 76: 373-80.

De Mari K, Maynard L, Eun HM, Lebreux B. Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in a placebo-controlled field trial. *Vet Rec* 2003; 152: 105-8.

De Martinis M, Franceschi C, Monti D, Ginaldi L. Inflamm-ageing and lifelong antigenic load as major determinants of ageing rate and longevity. *FEBS Lett* 2005; 579: 2035-9.

De Oliveira PSB, Cargnelutti JF, Masuda EK, Weiblen R, Flores EF. New variants of canine parvovirus in dogs in southern Brazil. *Arch Virol* 2019; 164: 1361-9.

De Paoli P, Battistin S, Santini GF. Age-related changes in human lymphocyte subsets: Progressive reduction of the CD4 CD45R (suppressor inducer) population. *Clin Immunol Immunopathol* 1988; 48: 290-6.

De Wals P, Deceuninck G, Toth E, Boulianne N, Brunet D, Boucher RM, Landry M, De Serres G. Risk of Guillain-Barré syndrome following H1N1 influenza vaccination in Quebec. *JAMA* 2012; 308: 175-81.

Debenham SL, Millington A, Kijast J, Andersson L, Binns M. Canine leucocyte adhesion deficiency in Irish Red and White Setters. *J Small Anim Pract* 2002; 43: 74-5.

Decaro N, Desario C, Campolo M, Cavalli A, Ricci D, Martella V, Tempesta M, Buonavoglia C. Evaluation of lactogenic immunity to canine parvovirus in pups. *New Microbiol* 2004; 27: 375-9.

Decaro N, Campolo M, Desario C, Elia G, Martella V, Lorusso E, Buonavoglia C. Maternally-derived antibodies in pups and protection from canine parvovirus infection. *Biologicals* 2005a; 33: 261-7.

Decaro N, Desario C, Campolo M, Elia G, Martella V, Ricci D, Lorusso E, Buonavoglia C. Clinical and virological findings in pups naturally infected by canine parvovirus type 2 Glu-426 mutant. *J Vet Diagn Invest* 2005b; 17: 133-8.

Decaro N, Elia G, Campolo M, Desario C, Lucente MS, Bellacicco AL, Buonavoglia C. New approaches for the molecular characterization of canine parvovirus type 2 strains. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2005c; 52: 316-9.

Decaro N, Elia G, Martella V, Desario C, Campolo M, Trani LD, Tarsitano E, Tempesta M, Buonavoglia C. A real-time PCR assay for rapid detection and quantitation of canine parvovirus type 2 in the feces of dogs. *Vet Microbiol* 2005d; 105: 19-28.

Decaro N, Elia G, Desario C, Roperto S, Martella V, Campolo M, Lorusso A, Cavalli A, Buonavoglia C. A minor groove binder probe real-time PCR assay for discrimination between type 2-based vaccines and field strains of canine parvovirus. *J Virol Methods* 2006a; 136: 65-70.

Decaro N, Elia G, Martella V, Campolo M, Desario C, Camero M, Cirone F, Lorusso E, Lucente MS, Narcisi D, Scalia P, Buonavoglia C. Characterisation of the canine parvovirus type 2 variants using minor groove binder probe technology. *J Virol Methods* 2006b; 133: 92-9.

Decaro N, Martella V, Desario C, Bellacicco AL, Camero M, Manna L, d'Aloja D, Buonavoglia C. First detection of canine parvovirus type 2c in pups with haemorrhagic enteritis in Spain. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2006c; 53: 468-72.

Decaro N, Martella V, Elia G, Desario C, Campolo M, Buonavoglia D, Bellacicco AL, Tempesta M, Buonavoglia C. Diagnostic tools based on minor groove binder probe technology for rapid identification of vaccinal and field strains of canine parvovirus type 2b. *J Virol Methods* 2006d; 138: 10-6.

Decaro N, Desario C, Addie DD, Martella V, Vieira MJ, Elia G, Zicola A, Davis C, Thompson G, Thiry E, Truyen U, Buonavoglia C. Molecular epidemiology of canine parvovirus, Europe. *Emerg Infect Dis* 2007a; 13: 1222-4.

Decaro N, Desario C, Elia G, Campolo M, Lorusso A, Mari V, Martella V, Buonavoglia C. Occurrence of severe gastroenteritis in pups after canine parvovirus vaccine administration: A clinical and laboratory diagnostic dilemma. *Vaccine* 2007b; 25: 1161-6.

Decaro N, Desario C, Elia G, Martella V, Mari V, Lavazza A, Nardi M, Buonavoglia C. Evidence for immunisation failure in vaccinated adult dogs infected with canine parvovirus type 2c. *New Microbiol* 2008; 31: 125-30.

Decaro N, Cirone F, Desario C, Elia G, Lorusso E, Colaianni ML, Martella V,

Buonavoglia C. Severe parvovirus in a 12-year-old dog that had been repeatedly vaccinated. *Vet Rec* 2009; 164: 593-5.

Decaro N, Desario C, Beall MJ, Cavalli A, Campolo M, Dimarco AA, Amorisco F, Colaianni ML, Buonavoglia C. Detection of canine parvovirus type 2c by a commercially available in-house rapid test. *Vet J* 2010; 184: 373-5.

Decaro N, Desario C, Billi M, Mari V, Elia G, Cavalli A, Martella V, Buonavoglia C. Western European epidemiological survey for parvovirus and coronavirus infections in dogs. *Vet J* 2011; 187: 195-9.

Decaro N, Buonavoglia C. Canine parvovirus—a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Vet Microbiol* 2012; 155: 1-12.

Decaro N, Desario C, Billi M, Lorusso E, Colaianni ML, Colao V, Elia G, Ventrella G, Kusi I, Bo S, Buonavoglia C. Evaluation of an in-clinic assay for the diagnosis of canine parvovirus. *Vet J* 2013; 198: 504-7.

Decaro N, Crescenzo G, Desario C, Cavalli A, Losurdo M, Colaianni ML, Ventrella G, Rizzi S, Aulicino S, Lucente MS, Buonavoglia C. Long-term viremia and fecal shedding in pups after modified-live canine parvovirus vaccination. *Vaccine* 2014; 32: 3850-3.

Deeg C, Kaspers A, Hartmann K, Kraft W, Kaspers B. Canine Hypothyreose: Nachweis von Autoantikörpern gegen Thyreoglobulin. *Tierärztl Prax* 1997; 25: 170-3.

Dei Giudici S, Cubeddu T, Giagu A, Sanna G, Rocca S, Oggiano A. First molecular characterization of canine parvovirus strains in Sardinia, Italy. *Arch Virol* 2017; 162: 3481-6.

Demicheli V, Rivetti A, Debalini MG, Di Pietrantonj C. Vaccines for measles, mumps and rubella in children. *Cochrane Database Syst Rev* 2012: CD004407.

Desario C, Decaro N, Campolo M, Cavalli A, Cirone F, Elia G, Martella V, Lorusso E, Camero M, Buonavoglia C. Canine parvovirus infection: Which diagnostic test for virus? *J Virol Methods* 2005; 126: 179-85.

Desmettre P, Martinod S. Conception of a vaccine, in: Research and development. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997a: 176-8, Referenzen: 193-4.

Desmettre P, Martinod S. Development, in: Research and development. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997b: 178-9, Referenzen: 193-4.

Desmettre P, Martinod S. Inactivation process, in: Research and development. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997c: 179-81, Referenzen: 193-4.

Desmettre P, Martinod S. Experimental evaluation of efficacy (mono- and multivalent vaccines), in: Research and development. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997d: 181-2, Referenzen: 193-4.

Desmettre P, Martinod S. Challenge, in: Research and development. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997e: 182-3, Referenzen: 193-4.

Desmettre P, Martinod S. Evaluation of genetic stability, in: Research and development. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997f: 183-5, Referenzen: 193-4.

Desmettre P, Martinod S. Experimental evaluation of safety, in: Research and

development. In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997g: 185-6, Referenzen: 193-4.

Desmettre P, Martinod S. Demonstration of absence of transmission and/or carrier state, in: Research and development. In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997h: 186-7, Referenzen: 193-4.

Desmettre P, Martinod S. Demonstration of safety in pregnant animals, in: Research and development. In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997i: 187-8, Referenzen: 193-4.

Desmettre P, Martinod S. Field trials, in: Research and development. In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997j: 188-90, Referenzen: 193-4.

Desmettre P, Martinod S. Biases in the evaluation process, in: Research and development. In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997k: 191, Referenzen: 193-4.

Desmettre P, Martinod S. Formulation, in: Research and development. In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997l: 192-4.

DeWitt JC, Luebke RW. Immunological aging, in: Immune system toxicology. In: Comprehensive Toxicology, 3rd edn. McQueen CA, ed. Oxford, England: Elsevier 2018: 272-81.

Dhabhar FS, McEwen BS. Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity in vivo: A potential role for leukocyte trafficking. Brain Behav Immun 1997; 11: 286-306.

Dias PJ, Gopal S. Refractory thrombotic thrombocytopenic purpura following influenza vaccination. *Anaesthesia* 2009; 64: 444-6.

Diaz NM, Mendez GS, Grijalva CJ, Walden HS, Cruz M, Aragon E, Hernandez JA. Dog overpopulation and burden of exposure to canine distemper virus and other pathogens on Santa Cruz Island, Galapagos. *Prev Vet Med* 2016; 123: 128-37.

DiBartola SP, Tarr MJ, Webb DM, Giger U. Familial renal amyloidosis in Chinese Shar-Pei dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1990; 197: 483-7.

Dieleman J, Romio S, Johansen K, Weibel D, Bonhoeffer J, Sturkenboom M. Guillain-Barré syndrome and adjuvanted pandemic influenza A (H1N1) 2009 vaccine: Multinational case-control study in Europe. *BMJ* 2011; 343: d3908.

Diethelm AG, Busch GJ, Dubernard JM, Orr WM, Glassock RJ, Birtch AG, Murray JE. Prolongation of canine renal allografts by horse anti-dog lymphocyte serum and globulin. *Ann Surg* 1969; 169: 569-77.

Digangi BA, Levy JK, Griffin B, Reese MJ, Dingman PA, Tucker SJ, Dubovi EJ. Effects of maternally-derived antibodies on serologic responses to vaccination in kittens. *J Feline Med Surg* 2012; 14: 118-23.

Dimmitt R. Clinical experience with cross-protective anti-endotoxin antiserum in dogs with parvoviral enteritis. *Canine Pract* 1991; 16: 23-6.

Dittmann R. Risiko des Impfens und das noch größere Risiko, nicht geimpft zu sein. *Bundesgesundheitsbl* 2002; 45: 316-22.

Dixon RM, Mooney CT. Canine serum thyroglobulin autoantibodies in health, hypothyroidism and non-thyroidal illness. *Res Vet Sci* 1999; 66: 243-6.

Dobbs CM, Feng N, Beck FM, Sheridan JF. Neuroendocrine regulation of cytokine production during experimental influenza viral infection: Effects of restraint stress-



induced elevation in endogenous corticosterone. *J Immunol* 1996; 157: 1870-7.

Dodd CN, Romio SA, Black S, Vellozzi C, Andrews N, Sturkenboom M, Zuber P, Hua W, Bonhoeffer J, Buttery J, Crawford N, Deceuninck G, de Vries C, De Wals P, Gutierrez-Gimeno MV, Heijbel H, Hughes H, Hur K, Hviid A, Kelman J, Kilpi T, Chuang SK, Macartney K, Rett M, Lopez-Callada VR, Salmon D, Gimenez-Sanchez F, Sanz N, Silverman B, Storsaeter J, Thirugnanam U, van der Maas N, Yih K, Zhang T, Izurieta H. International collaboration to assess the risk of Guillain-Barré syndrome following Influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccines. *Vaccine* 2013; 31: 4448-58.

Dodds WJ. Immune-mediated diseases of the blood. *Adv Vet Sci Comp Med* 1983; 27: 163-96.

Dodds WJ. Vaccine safety and efficacy revisited: Autoimmune and allergic diseases on the rise. *Vet Forum* 1993; 10: 67-71.

Dodds WJ. Estimating disease prevalence with health surveys and genetic screening. *Adv Vet Sci Comp Med* 1995; 39: 29-96.

Dodds WJ. Vaccine-related issues. In: *Complementary and Alternative Veterinary Medicine: Principles and Practice*, 1st edn. Schoen AM, Wynn SG, eds. St. Louis, Missouri, USA: Mosby 1997: 701-12.

Dodds WJ. More bumps on the vaccine road, in: *Adverse vaccine reactions, failures, and postmarketing surveillance*. In: *Advances in Veterinary Medicine, Volume 41, Veterinary Vaccines and Diagnostics*. Schultz RD, ed. San Diego, Kalifornien, USA: Academic Press 1999: 715-32.

Dodds WJ. Vaccination protocols for dogs predisposed to vaccine reactions. *J Am Anim Hosp Assoc* 2001; 37: 211-4.

Dodds WJ. The immune system and disease resistance. *Clin Tech in Small Anim*

Pract 2002; 17: 58-63.

Dodds WJ. Bleeding disorders in animals. 30th Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), Mexico City, Mexiko 2005. Verfügbar unter: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11196&meta=generic&catId=30756&id=3854231> [abgerufen am 31.08.2019].

Dodds WJ. Immune plasma for treatment of parvoviral gastroenteritis (Comment on: Clinical evaluation of a single dose of immune plasma for treatment of canine parvovirus infection. J Am Vet Med Assoc 2012). J Am Vet Med Assoc 2012; 240: 1056.

Doddy FD, Glickman LT, Glickman NW, Janovitz EB. Feline fibrosarcomas at vaccination sites and non-vaccination sites. J Comp Pathol 1996; 114: 165-74.

Dohms JE, Metz A. Stress—mechanisms of immunosuppression. Vet Immunol Immunopathol 1991; 30: 89-109.

Doki M, Fujita K, Miura R, Yoneda M, Ishikawa Y, Taneno A, Kai C. Sequence analysis of VP2 gene of canine parvovirus isolated from domestic dogs in Japan in 1999 and 2000. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2006; 29: 199-206.

Dougherty SA, Center SA, Shaw EE, Erb HA. Juvenile-onset polyarthritis syndrome in Akitas. J Am Vet Med Assoc 1991; 198: 849-56.

Drees O. Virusinaktivierung und Virusdesinfektion. In: Virus- und Rickettsieninfektionen des Menschen, Softcover reprint der 1. edn. Haas R, Vivell O, eds. München, Deutschland: J. F. Lehmanns Verlag 1965: 240-68.

Duenwald JC, Holland JM, Gorham JR, Ott RL. Feline panleukopenia: Experimental cerebellar hypoplasia produced in neonatal ferrets with live virus vaccine. Res Vet Sci 1971; 12: 394-6.

Duffy A, Dow S, Ogilvie G, Rao S, Hackett T. Hematologic improvement in dogs with parvovirus infection treated with recombinant canine granulocyte-colony stimulating factor. *J Vet Pharmacol Ther* 2010; 33: 352-6.

Durchfeld B, Baumgärtner W, Herbst W, Brahm R. Vaccine-associated canine distemper infection in a litter of African hunting dogs (*Lycaon pictus*). *Zentralbl Veterinarmed B* 1990; 37: 203-12.

Dutta SK, Novilla MN, Bumgardner MK, Ingling A. Lymphocyte responsiveness to mitogens and quantitation of T and B lymphocytes in canine malignant lymphoma. *Am J Vet Res* 1978; 39: 455-8.

Duval D, Giger U. Vaccine-associated immune-mediated hemolytic anemia in the dog. *J Vet Intern Med* 1996; 10: 290-5.

Duxbury MM, Jackson JA, Line SW, Anderson RK. Evaluation of association between retention in the home and attendance at puppy socialization classes. *J Am Vet Med Assoc* 2003; 223: 61-6.

Dwivedi P, Burns RB. Effect of ochratoxin A on immunoglobulins in broiler chicks. *Res Vet Sci* 1984; 36: 117-21.

Dyer F, Spagnuolo-Weaver M. Efficacy of vaccination against canine parvovirus. *Vet Rec* 2006; 159: 605.

Dyer F, Spagnuolo-Weaver M, Cooles S, Tait A. Suspected adverse reactions, 2006. *Vet Rec* 2007; 160: 748-50.

Dyer F, Spagnuolo-Weaver M, Cooles S, Tait A. Suspected adverse reactions, 2007. *Vet Rec* 2008; 163: 69-72.

Dyer F, Brown E, Cooles S, Tait A. Suspected adverse reactions, 2008. *Vet Rec* 2009; 165: 162-4.

Dyer F, Diesel G, Cooles S, Tait A. Suspected adverse reactions, 2009. *Vet Rec* 2010; 167: 118-21.

Dyer F, Diesel G, Cooles S, Tait A. Suspected adverse events, 2010. *Vet Rec* 2011; 168: 610-3.

Edwards DS, Henley WE, Ely ER, Wood JL. Vaccination and ill-health in dogs: A lack of temporal association and evidence of equivalence. *Vaccine* 2004; 22: 3270-3.

Ek T, Mellander L, Hahn-Zoric M, Abrahamsson J. Intensive treatment for childhood acute lymphoblastic leukemia reduces immune responses to diphtheria, tetanus, and *Haemophilus influenzae* type b. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26: 727-34.

Ek T, Mellander L, Hahn-Zoric M, Abrahamsson J. Avidity of tetanus and Hib antibodies after childhood acute lymphoblastic leukaemia – implications for vaccination strategies. *Acta Paediatr* 2006; 95: 701-6.

Ek-Kommonen C, Sihvonen L, Pekkanen K, Rikula U, Nuotio L. Outbreak of canine distemper in vaccinated dogs in Finland. *Vet Rec* 1997; 141: 380-3.

El-Lethey H, Huber-Eicher B, Jungi TW. Exploration of stress-induced immunosuppression in chickens reveals both stress-resistant and stress-susceptible antigen responses. *Vet Immunol Immunopathol* 2003; 95: 91-101.

Eldar AH, Chapman J. Guillain-Barré syndrome and other immune mediated neuropathies: Diagnosis and classification. *Autoimmun Rev* 2014; 13: 525-30.

Elia G, Cavalli A, Cirone F, Lorusso E, Camero M, Buonavoglia D, Tempesta M. Antibody levels and protection to canine parvovirus type 2. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2005; 52: 320-2.

Elia G, Cavalli A, Desario C, Lorusso E, Lucente MS, Decaro N, Martella V, Buonavoglia C. Detection of infectious canine parvovirus type 2 by mRNA real-time RT-PCR. *J Virol Methods* 2007; 146: 202-8.

Eliakim A, Schwindt C, Zaldivar F, Casali P, Cooper DM. Reduced tetanus antibody titers in overweight children. *Autoimmunity* 2006; 39: 137-41.

Ellis J, Gow S, Rhodes C, Lacoste S, Kong L, Musil K, Snead E. Serum antibody responses to vaccinal antigens in lean and obese geriatric dogs. *Can Vet J* 2016; 57: 531-4.

Ellis RP, Vorhies MW. Effect of supplemental dietary vitamin E on the serologic response of swine to an *Escherichia coli* bacterin. *J Am Vet Med Assoc* 1976; 168: 231-2.

Ellis RW. *Hepatitis B Vaccines in Clinical Practice*. Ellis RW, ed. New York, USA: Marcel Dekker, Inc. 1993.

Ellis RW. New technologies for making vaccines. *Vaccine* 1999; 17: 1596-604.

Emens LA, Machiels JP, Reilly RT, Jaffee EM. Chemotherapy: Friend or foe to cancer vaccines? *Curr Opin Mol Ther* 2001; 3: 77-84.

Emens LA, Armstrong D, Biedrzycki B, Davidson N, Davis-Sproul J, Fetting J, Jaffee E, Onners B, Piantadosi S, Reilly RT, Stearns V, Tartakovsky I, Visvanathan K, Wolff A. A phase I vaccine safety and chemotherapy dose-finding trial of an allogeneic GM-CSF-secreting breast cancer vaccine given in a specifically timed sequence with immunomodulatory doses of cyclophosphamide and doxorubicin. *Hum Gene Ther* 2004; 15: 313-37.

Emens LA, Asquith JM, Leatherman JM, Kobrin BJ, Petrik S, Laiko M, Levi J, Daphtary MM, Biedrzycki B, Wolff AC, Stearns V, Disis ML, Ye X, Piantadosi S, Fetting JH, Davidson NE, Jaffee EM. Timed sequential treatment with

cyclophosphamide, doxorubicin, and an allogeneic granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-secreting breast tumor vaccine: A chemotherapy dose-ranging factorial study of safety and immune activation. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5911-8.

Erickson GA, Bolin SR, Landgraf JG. Viral contamination of fetal bovine serum used for tissue culture: Risks and concerns. *Dev Biol Stand* 1991; 75: 173-5.

Esfandiari J, Klingeborn B. A comparative study of a new rapid and one-step test for the detection of parvovirus in faeces from dogs, cats and mink. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2000; 47: 145-53.

Esterling B, Rabin BS. Stress-induced alteration of T-lymphocyte subsets and humoral immunity in mice. *Behav Neurosci* 1987; 101: 115-9.

Eugster AK. Studies on canine parvovirus infections: Development of an inactivated vaccine. *Am J Vet Res* 1980; 41: 2020-4.

Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union. Richtlinie 2001/82/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 6. November 2001 zur Schaffung eines Gemeinschaftskodexes für Tierarzneimittel. 2001. Verfügbar unter: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/ALL/?uri=CELEX%3A32001L0082> [abgerufen am 31.08.2019].

European Advisory Board on Cat Diseases ABCD. Bordetella bronchiseptica infection in cats. 2015a. Verfügbar unter: <http://www.abcdcatsvets.org/bordetella-bronchiseptica-infection-in-cats-2012-edition/> [abgerufen am 14.09.2019].

European Advisory Board on Cat Diseases ABCD. Vaccines and vaccination, an introduction. 2015b. Verfügbar unter: <http://www.abcdcatsvets.org/vaccines-and-vaccination-an-introduction> [abgerufen am 15.08.2019].

European Advisory Board on Cat Diseases ABCD. ABCD Guidelines on

vaccination in immunosuppressed cats. 2017. Verfügbar unter: <http://www.abcdcatsvets.org/vaccination-in-immunosuppressed-cats> [abgerufen am 18.08.2019].

European Advisory Board on Cat Diseases ABCD. Feline injection site sarcoma. 2019. Verfügbar unter: <http://www.abcdcatsvets.org/feline-injection-site-sarcoma-2> [abgerufen am 18.08.2019].

European Medicines Agency. Note for guidance: Field trials with veterinary vaccines, adopted guideline, reference number EMA/CVMP/852/99. 2001. Verfügbar unter: <https://www.ema.europa.eu/en/field-trials-veterinary-vaccines> [abgerufen am 29.06.2019].

European Medicines Agency. Recommendation on harmonising the approach to causality assessment for adverse reactions to veterinary medicinal products, reference number EMEA/CVMP/PhVWP/552/2003-Rev.1. 2013. Verfügbar unter: <https://www.ema.europa.eu/en/veterinary-regulatory/post-authorisation/pharmacovigilance/guidance/recommendation-harmonising-approach-causality-assessment-adverse-events-veterinary-medicinal> [abgerufen am 31.08.2019].

European Medicines Agency. Guideline on requirements for the production and control of immunological veterinary medicinal products, adopted guideline, reference number EMA/CVMP/IWP/206555/2010-Rev.1. 2016. Verfügbar unter: <https://www.ema.europa.eu/en/requirements-production-control-immunological-veterinary-medicinal-products> [abgerufen am 13.07.2019].

European Medicines Agency. Cytopoint: EPAR (European public assessment report) – product information. 2019a. Verfügbar unter: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/veterinary/EPAR/cytopoint> [abgerufen am 09.08.2019].

European Medicines Agency. Apoquel: EPAR (European public assessment report) – product information. 2019b. Verfügbar unter:

<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/veterinary/EPAR/apoquel> [abgerufen am 09.08.2019].

Evermann JF, McKeirnan AJ, Wilbur LA, Levings RL, Trueblood ES, Baldwin TJ, Hughbanks FG. Canine fatalities associated with the use of a modified live vaccine administered during late stages of pregnancy. *J Vet Diagn Invest* 1994; 6: 353-7.

Evstigneeva RP, Volkov IM, Chudinova VV. Vitamin E as a universal antioxidant and stabilizer of biological membranes. *Membr Cell Biol* 1998; 12: 151-72.

Fahey AG, Cheng HW. Effects of social disruption on physical parameters, corticosterone concentrations, and immune system in two genetic lines of White Leghorn layers. *Poult Sci* 2008a; 87: 1947-54.

Fahey AG, Cheng HW. Group size and density effects on physical indices and cell-mediated immunity in two genetic lines of White Leghorn layers. *Poult Sci* 2008b; 87: 2500-4.

Faldyna M, Levá L, Knötigová P, Toman M. Lymphocyte subsets in peripheral blood of dogs—a flow cytometric study. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 82: 23-37.

Famularo G, Nicotra GC, Minisola G, De Simone C. Leukocytoclastic vasculitis after influenza vaccination. *J Clin Rheumatol* 2006; 12: 48-50.

Fan TM. Lymphoma updates. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2003; 33: 455-71.

Faulkner OB, Estevez C, Yu Q, Suarez DL. Passive antibody transfer in chickens to model maternal antibody after avian influenza vaccination. *Vet Immunol Immunopathol* 2013; 152: 341-7.

Feery BJ, Hartman LJ, Hampson AW, Proietto J. Influenza immunization in adults



with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1983; 6: 475-8.

Feldman S, Gigliotti F, Bockhold C, Naegele R. Measles and rubella antibody status in previously vaccinated children with cancer. *Med Pediatr Oncol* 1988; 16: 308-11.

Felsburg PJ, Hartnett BJ, Henthorn PS, Moore PF, Krakowka S, Ochs HD. Canine X-linked severe combined immunodeficiency. *Vet Immunol Immunopathol* 1999; 69: 127-35.

Fenner F. A successful eradication campaign. Global eradication of smallpox. *Rev Infect Dis* 1982; 4: 916-30.

Fenner F, Pastoret PP, Blancou J, Terré J. Historical introduction. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997: 3-19.

Fermaglich DH, Horohov DW. The effect of aging on immune responses. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2002; 18: 621-30, ix.

Feugier A, Chastant S, Mila H, Grellet A. Canine health product containing antibodies against canine parvovirus type 2. Internationales Patent WO2015/004181A1. Mars, Incorporated, Mc Lean, Virginia USA und Mars, Petcare UK, Berkshire, UK. 2015. Verfügbar unter: <https://patents.google.com/patent/WO2015004181A1> [abgerufen am 30.08.2019].

Filipov C, Desario C, Patouchas O, Eftimov P, Gruichev G, Manov V, Filipov G, Buonavoglia C, Decaro N. A ten-year molecular survey on parvoviruses infecting carnivores in Bulgaria. *Transbound Emerg Dis* 2016; 63: 460-4.

Finch JM, Turner RJ. Effects of selenium and vitamin E on the immune responses of domestic animals. *Res Vet Sci* 1996; 60: 97-106.

Finch NC, Syme HM, Elliott J. Risk factors for development of chronic kidney disease in cats. *J Vet Intern Med* 2016; 30: 602-10.

Finch R. Immunomodulating effects of antimicrobial agents. *J Antimicrob Chemother* 1980; 6: 691-4.

Fine PE. Methodological issues in the evaluation and monitoring of vaccine safety. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 754: 300-8.

Fiorello C, Deem SL, Gompper ME, Dubovi E. Seroprevalence of pathogens in domestic carnivores on the border of Madidi National Park, Bolivia. *Anim Conserv* 2004; 7: 45-54.

Fiorello CV, Noss AJ, Deem SL. Demography, hunting ecology, and pathogen exposure of domestic dogs in the Isoso of Bolivia. *Conserv Biol* 2006; 20: 762-71.

Fischer G, Cleff MB, Dummer LA, Paulino N, Paulino AS, de Oliveira Vilela C, Campos FS, Storch T, D'Avila Vargas G, de Oliveira Hübner S, Vidor T. Adjuvant effect of green propolis on humoral immune response of bovines immunized with bovine herpesvirus type 5. *Vet Immunol Immunopathol* 2007a; 116: 79-84.

Fischer G, Conceição FR, Leite FP, Dummer LA, Vargas GD, Hübner Sde O, Dellagostin OA, Paulino N, Paulino AS, Vidor T. Immunomodulation produced by a green propolis extract on humoral and cellular responses of mice immunized with SuHV-1. *Vaccine* 2007b; 25: 1250-6.

Fiscus SA, Mildbrand MM, Gordon JC, Teramoto YA, Winston S. Rapid enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibodies to canine parvovirus. *Am J Vet Res* 1985; 46: 859-63.

Fiske RA, Adams LG. Immune responsiveness and lymphoreticular morphology in cattle fed hypo- and hyperalimentary diets. *Vet Immunol Immunopathol* 1985; 8: 225-44.

Flemming D. The potential for liability in the use and misuse of veterinary vaccines. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2001; 31: 515-23.

Flemming DD, Scott JF. The informed consent doctrine: What veterinarians should tell their clients. *J Am Vet Med Assoc* 2004; 224: 1436-9.

Flores CM, Hernandez MC, Hargreaves KM, Bayer BM. Restraint stress-induced elevations in plasma corticosterone and beta-endorphin are not accompanied by alterations in immune function. *J Neuroimmunol* 1990; 28: 219-25.

Flückiger M. Die Parvovirus-Enteritis des Hundes. Eine Analyse von 50 Fällen. *Schweiz Arch Tierheilkd* 1980; 122: 573-84.

Foale RD, Herrtage ME, Day MJ. Retrospective study of 25 young Weimaraners with low serum immunoglobulin concentrations and inflammatory disease. *Vet Rec* 2003; 153: 553-8.

Foisnet A, Farmer C, David C, Quesnel H. Relationships between colostrum production by primiparous sows and sow physiology around parturition. *J Anim Sci* 2010; 88: 1672-83.

Foley J, Orgad U, Hirsh DC, Poland A, Pedersen NC. Outbreak of fatal salmonellosis in cats following use of a high-titer modified-live panleukopenia virus vaccine. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 214: 67-70, 43-4.

Foley JE, Hurley K, Pesavento PA, Poland A, Pedersen NC. Virulent systemic feline calicivirus infection: Local cytokine modulation and contribution of viral mutants. *J Feline Med Surg* 2006; 8: 55-61.

Folsom RW, Littlefield-Chabaud MA, French DD, Pourciau SS, Mistic L, Horohov DW. Exercise alters the immune response to equine influenza virus and increases susceptibility to infection. *Equine Vet J* 2001; 33: 664-9.

Fontana DS, Rocha PRD, Cruz RAS, Lopes LL, Melo ALT, Silveira MM, Aguiar DM, Pescador CA. A phylogenetic study of canine parvovirus type 2c in midwestern Brazil. *Pesqui Vet Bras* 2013; 33: 214-8.

Fooks AR, McElhinney LM, Brookes SM, Johnson N, Keene V, Parsons G, Soldan A. Rabies antibody testing and the UK Pet Travel Scheme. *Vet Rec* 2002; 150: 428-30.

Ford RB. Vaccines and vaccinations. The strategic issues. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2001a; 31: 439-53.

Ford RB. Preface. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2001b; 31: 550-5.

Ford RB, Larson LJ, McClure KD, Schultz RD, Welborn LV. 2017 AAHA Canine Vaccination Guidelines. *J Am Anim Hosp Assoc* 2017; 53: 243-51.

Formelli F, Rossi C, Sensi ML, Parmiani G. Potentiation of adoptive immunotherapy by cis-diamminedichloroplatinum(II), but not by doxorubicin, on a disseminated mouse lymphoma and its association with reduction of tumor burden. *Int J Cancer* 1988; 42: 952-7.

Fornasiero MC, Ferrari M, Gnocchi P, Trizio D, Isetta AM. Immunodepressive activity of FCE 23762 on humoral and cell-mediated immune responses in normal mice: Comparison with doxorubicin. *Agents Actions* 1992; 37: 311-8.

Fouremant P, Whiteley M, Giger U. Canine leukocyte adhesion deficiency: Presence of the Cys36Ser beta-2 integrin mutation in an affected US Irish Setter cross-breed dog and in US Irish Red and White Setters. *J Vet Intern Med* 2002; 16: 518-23.

Frana TS, Clough NE, Gatewood DM, Rupprecht CE. Postmarketing surveillance of rabies vaccines for dogs to evaluate safety and efficacy. *J Am Vet Med Assoc* 2008; 232: 1000-2.

France EK, Glanz J, Xu S, Hambidge S, Yamasaki K, Black SB, Marcy M, Mullooly JP, Jackson LA, Nordin J, Belongia EA, Hohman K, Chen RT, Davis R. Risk of immune thrombocytopenic purpura after measles-mumps-rubella immunization in children. *Pediatrics* 2008; 121: e687-92.

Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F, Panourgia MP, Invidia L, Celani L, Scurti M, Cevenini E, Castellani GC, Salvioli S. Inflammaging and anti-inflammaging: A systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev* 2007; 128: 92-105.

Freigang B, Jadavji TP, Freigang DW. Lack of adverse reactions to measles, mumps, and rubella vaccine in egg-allergic children. *Ann Allergy* 1994; 73: 486-8.

Frick OL, Brooks DL. Immunoglobulin E antibodies to pollens augmented in dogs by virus vaccines. *Am J Vet Res* 1983; 44: 440-5.

Friedrich K, Truyen U. Untersuchung der Wirksamkeit von Parvovirusimpfstoffen und der Effektivität zweier Impfschemata. *Prakt Tierarzt* 2000; 81: 988-94.

Fritz TE, Zeman RC, Zelle MR. Pathology and familial incidence of thyroiditis in a closed Beagle colony. *Exp Mol Pathol* 1970; 12: 14-30.

Gabriel H, Kindermann W. The acute immune response to exercise: What does it mean? *Int J Sports Med* 1997; 18: S28-45.

Gagnon AN, Povey RC. A possible parvovirus associated with an epidemic gastroenteritis of dogs in Canada. *Vet Rec* 1979; 104: 263-4.

Gagnon CA, Allard V, Cloutier G. Canine parvovirus type 2b is the most prevalent genomic variant strain found in parvovirus antigen positive diarrheic dog feces samples across Canada. *Can Vet J* 2016; 57: 29-31.

Gaillard RC, Spinedi E. Sex- and stress-steroids interactions and the immune

system: Evidence for a neuroendocrine-immunological sexual dimorphism. *Domest Anim Endocrinol* 1998; 15: 345-52.

Gallo Caldéron M, Wilda M, Boado L, Keller L, Malirat V, Iglesias M, Mattion N, La Torre J. Study of canine parvovirus evolution: Comparative analysis of full-length VP2 gene sequences from Argentina and international field strains. *Virus Genes* 2012; 44: 32-9.

Garden OA, Kidd L, Mexas AM, Chang YM, Jeffery U, Blois SL, Fogle JE, MacNeill AL, Lubas G, Birkenheuer A, Buoncompagni S, Dandrieux JRS, Di Loria A, Fellman CL, Glanemann B, Goggs R, Granick JL, LeVine DN, Sharp CR, Smith-Carr S, Swann JW, Szladovits B. ACVIM consensus statement on the diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 2019; 33: 313-34.

Gardner I. Epidemiology and control of viral diseases. In: Fenner's *Veterinary Virology*, 5th edn. MacLachlan NJ, Dubovi EJ, Barthold SW, Swayne DE, Winton JR, eds. London, United Kingdom: Academic Press, Imprint of Elsevier 2017: 131-53.

Gaskell RM, Gettinby G, Graham SJ, Skilton D. Veterinary Products Committee (VPC) working group report on feline and canine vaccination. *Vet Rec* 2002; 150: 126-34.

Gaskell RM, Dawson S, Radford AD. Duration of immunity (DOI)—The regulatory issues. *Vet Microbiol* 2006; 117: 80-5.

Gaskin JH, Kitay JJ. Adrenocortical function in the hamster. Sex differences and effects of gonadal hormones. *Endocrinology* 1970; 87: 779-86.

Gautam SC, Chikkala NF, Ganapathi R, Hamilton TA. Combination therapy with adriamycin and interleukin 2 augments immunity against murine renal cell carcinoma. *Cancer Res* 1991; 51: 6133-7.

Gehring R, Eggars B. Suspected post-vaccinal acute polyradiculoneuritis in a puppy. *J S Afr Vet Assoc* 2001; 72: 96.

Geng Y, Guo D, Li C, Wang E, Wei S, Wang Z, Yao S, Zhao X, Su M, Wang X, Wang J, Wu R, Feng L, Sun D. Co-circulation of the rare CPV-2c with unique Gln370Arg substitution, new CPV-2b with unique Thr440Ala substitution, and new CPV-2a with high prevalence and variation in Heilongjiang Province, Northeast China. *PLoS One* 2015; 10: e0137288.

Georgitis JW, Fasano MB. Allergenic components of vaccines and avoidance of vaccination-related adverse events. *Curr Allergy Rep* 2001; 1: 11-7.

Gerber JD, Brown AL. Effect of development and aging on the response of canine lymphocytes to phytohemagglutinin. *Infect Immun* 1974; 10: 695-9.

Gerlach M, Proksch AL, Unterer S, Speck S, Truyen U, Hartmann K. Efficacy of feline anti-parvovirus antibodies in the treatment of canine parvovirus infection. *J Small Anim Pract* 2017; 58: 408-15.

Gershwin LJ. Adverse reactions to vaccination: From anaphylaxis to autoimmunity. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2018; 48: 279-90.

Giebink GS, Le CT, Cosio FG, Spika JS, Schiffman G. Serum antibody responses of high-risk children and adults to vaccination with capsular polysaccharides of *Streptococcus pneumoniae*. *Rev Infect Dis* 1981; 3: S168-78.

Gilad J, Barnea E, Klement E. Aspirin treatment of postvaccinal hypertrophic osteodystrophy in a Weimaraner puppy. *Vet Rec* 2002; 150: 456.

Gill M, Srinivas J, Morozov I, Smith J, Anderson C, Glover S, Champ D, Chu HJ. Three-year duration of immunity for canine distemper, adenovirus, and parvovirus after vaccination with a multivalent canine vaccine. *Intern J Appl Res Vet Med* 2004; 2: 227-34.

Ginaldi L, Loreto MF, Corsi MP, Modesti M, De Martinis M. Immunosenescence and infectious diseases. *Microbes Infect* 2001; 3: 851-7.

Giunta S. Exploring the complex relations between inflammation and aging (inflamm-aging): Anti-inflamm-aging remodelling of inflamm-aging, from robustness to frailty. *Inflamm Res* 2008; 57: 558-63.

Glardon O, Stöckli R. Staupeepidemie in der Schweiz: Epidemiologie und Impfanamnese. *Schweiz Arch Tierheilkd* 1985; 127: 707-16.

Glaser R, Kiecolt-Glaser JK, Bonneau RH, Malarkey W, Kennedy S, Hughes J. Stress-induced modulation of the immune response to recombinant hepatitis B vaccine. *Psychosom Med* 1992; 54: 22-9.

Glaser R, Sheridan J, Malarkey WB, MacCallum RC, Kiecolt-Glaser JK. Chronic stress modulates the immune response to a pneumococcal pneumonia vaccine. *Psychosom Med* 2000; 62: 804-7.

Glaser R, Kiecolt-Glaser JK. Stress-induced immune dysfunction: Implications for health. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 243-51.

Glickman LT, Domanski LM, Patronek GJ, Visintainer F. Breed-related risk factors for canine parvovirus enteritis. *J Am Vet Med Assoc* 1985; 187: 589-94.

Glover S, Anderson C, Piontkowski M, Ng T. Canine parvovirus (CPV) type 2b vaccine protects puppies with maternal antibodies to CPV when challenged with virulent CPV-2c virus. *Int J Appl Res Vet Med* 2012; 10: 217-24.

Gloyd J. Distemper vaccines recalled. *J Am Vet Med Assoc* 1995; 207: 1397.

Gobert M, Lafaille JJ. Maternal-fetal immune tolerance, block by block. *Cell* 2012; 150: 7-9.



Goddard A, Leisewitz AL. Canine parvovirus. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2010; 40: 1041-53.

Goggs R, Boag AK, Chan DL. Concurrent immune-mediated haemolytic anaemia and severe thrombocytopenia in 21 dogs. *Vet Rec* 2008; 163: 323-7.

Goggs R, Dennis SG, Di Bella A, Humm KR, McLauchlan G, Mooney C, Ridyard A, Tappin S, Walker D, Warman S, Whitley NT, Brodbelt DC, Chan DL. Predicting outcome in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia: Results of a multicenter case registry. *J Vet Intern Med* 2015; 29: 1603-10.

Goldston RT, Hoskins JD. *Geriatrics & gerontology of the dog and cat*. Philadelphia, USA: W.B. Saunders Co. 1995.

Golub MS, Gershwin ME. Stress-induced immunomodulation: What is it, if it is? In: *Animal Stress*, 1st edn. Moberg GP, ed. New York, USA: Springer-Verlag 1985: 177-92.

Gooding GE, Robinson WF. Maternal antibody, vaccination and reproductive failure in dogs with parvovirus infection. *Aust Vet J* 1982; 59: 170-4.

Gordon JC, Rogers WA. Field evaluation of a canine parvovirus vaccination program, using feline origin modified live virus vaccine. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 180: 1429-31.

Gordon JC, Angrick EJ. Canine parvovirus: Environmental effects on infectivity. *Am J Vet Res* 1986; 47: 1464-7.

Gore TC, Lakshmanan N, Duncan KL, Coyne MJ, Lum MA, Sterner FJ. Three-year duration of immunity in dogs following vaccination against canine adenovirus type-1, canine parvovirus, and canine distemper virus. *Vet Ther* 2005; 6: 5-14.

Gosselin SJ, Capen CC, Martin SL, Krakowka S. Autoimmune lymphocytic

thyroiditis in dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 1982; 3: 185-201.

Govaert TM, Sprenger MJ, Dinant GJ, Aretz K, Masurel N, Knottnerus JA. Immune response to influenza vaccination of elderly people. A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Vaccine* 1994; 12: 1185-9.

Goy-Thollot I, Decosne-Junot C, Bonnet JM. Influence of aging on adrenal responsiveness in a population of eleven healthy Beagles. *Res Vet Sci* 2007; 82: 195-201.

Graham PA, Nachreiner RF, Refsal KR, Provencher-Bolliger AL. Lymphocytic thyroiditis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2001; 31: 915-33, vi-vii.

Gray A, Evans C, Kidd A. Suspected adverse reactions to medicines during 1989. *Vet Rec* 1990; 126: 376-8.

Gray LK, Crawford PC, Levy JK, Dubovi EJ. Comparison of two assays for detection of antibodies against canine parvovirus and canine distemper virus in dogs admitted to a Florida animal shelter. *J Am Vet Med Assoc* 2012; 240: 1084-7.

Greco DS, Harpold LM. Immunity and the endocrine system. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1994; 24: 765-82.

Greeley EH, Kealy RD, Ballam JM, Lawler DF, Segre M. The influence of age on the canine immune system. *Vet Immunol Immunopathol* 1996; 55: 1-10.

Greeley EH, Ballam JM, Harrison JM, Kealy RD, Lawler DF, Segre M. The influence of age and gender on the immune system: A longitudinal study in Labrador Retriever dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 82: 57-71.

Greeley EH, Spitznagel E, Lawler DF, Kealy RD, Segre M. Modulation of canine immunosenescence by life-long caloric restriction. *Vet Immunol Immunopathol* 2006; 111: 287-99.

Greene CE, Schultz RD, Ford RB. Canine vaccination. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2001; 31: 473-92, v-vi.

Greene CE. Avoiding vaccine reactions in dogs and cats. 28th Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), Bangkok, Thailand 2003. Verfügbar unter:  
<https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?meta=Generic&pId=8768&id=3850113> [abgerufen am 31.08.2019].

Greene CE, Decaro N. Canine viral enteritis. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 4th revised edn. Greene CE, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders 2012: 67-75.

Greene CE, Levy J. Immunoprophylaxis. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 4th revised edn. Greene CE, ed. St. Louis, Missouri, USA: Saunders Elsevier 2012: 1163-205.

Greenwood NM, Chalmers WS, Baxendale W, Thompson H. Comparison of isolates of canine parvovirus by restriction enzyme analysis, and vaccine efficacy against field strains. *Vet Rec* 1995; 136: 63-7.

Greiner M, Gardner IA. Epidemiologic issues in the validation of veterinary diagnostic tests. *Prev Vet Med* 2000a; 45: 3-22.

Greiner M, Gardner IA. Application of diagnostic tests in veterinary epidemiologic studies. *Prev Vet Med* 2000b; 45: 43-59.

Grellet A, Chastant-Maillard S, Robin C, Feugier A, Boogaerts C, Boucraut-Baralon C, Grandjean D, Polack B. Risk factors of weaning diarrhea in puppies housed in breeding kennels. *Prev Vet Med* 2014; 117: 260-5.

Griebel PJ, Schoonderwoerd M, Babiuk LA. Ontogeny of the immune response: Effect of protein energy malnutrition in neonatal calves. *Can J Vet Res* 1987; 51:

428-35.

Griffin JF, Davis GH. Suppression of T-cell function in the pregnant ewe. Annual Conference of the New Zealand Society of Animal Production (NZSAP) 1985. 59-62.

Griffin JFT. Stress and immunity: A unifying concept. *Vet Immunol Immunopathol* 1989; 20: 263-312.

Grimaldi-Bensouda L, Alpérovitch A, Besson G, Vial C, Cuisset JM, Papeix C, Lyon-Caen O, Benichou J, Rossignol M, Abenhaim L. Guillain-Barré syndrome, influenzalike illnesses, and influenza vaccination during seasons with and without circulating A/H1N1 viruses. *Am J Epidemiol* 2011; 174: 326-35.

Grøndalen J. Metaphyseal osteopathy (hypertrophic osteodystrophy) in growing dogs. A clinical study. *J Small Anim Pract* 1976; 17: 721-35.

Haber P, Sejvar J, Mikaeloff Y, DeStefano F. Vaccines and Guillain-Barré syndrome. *Drug Saf* 2009; 32: 309-23.

Haghighi HR, Gong J, Gyles CL, Hayes MA, Sanei B, Parvizi P, Gisavi H, Chambers JR, Sharif S. Modulation of antibody-mediated immune response by probiotics in chickens. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; 12: 1387-92.

Haines DM, Lording PM, Penhale WJ. Survey of thyroglobulin autoantibodies in dogs. *Am J Vet Res* 1984; 45: 1493-7.

Hajek MG, Massimino SP, Burr JP, Kearns RJ. Dietary vitamin E improves immune function in cats. In: *Recent Advances in Canine and Feline Nutrition*, vol. III, IAMS Nutrition Symposium Proceedings. Carey DP, Reinhart GA, eds. Wilmington, Ohio, USA: Orange Frazer Press 2000: 555-63.

Halbrooks RD, Swango LJ, Schnurrenberger PR, Mitchell FE, Hill EP. Response

of gray foxes to modified live-virus canine distemper vaccines. *J Am Vet Med Assoc* 1981; 179: 1170-4.

Hall JA. Interaction of nutrition and immunology. 16th Annual Veterinary Medical Forum of the American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM), San Diego, Kalifornien, USA 1998. 6-11.

Hall JA, Wander RC, Gradin JL, Du SH, Jewell DE. Effect of dietary n-6-to-n-3 fatty acid ratio on complete blood and total white blood cell counts, and T-cell subpopulations in aged dogs. *Am J Vet Res* 1999; 60: 319-27.

Hall JA, Tooley KA, Gradin JL, Jewell DE, Wander RC. Effects of dietary n-6 and n-3 fatty acids and vitamin E on the immune response of healthy geriatric dogs. *Am J Vet Res* 2003; 64: 762-72.

Hamers C, Juillard V, Fischer L. DNA vaccination against pseudorabies virus and bovine respiratory syncytial virus infections of young animals in the face of maternally derived immunity. *J Comp Pathol* 2007; 137: S35-41.

Hammond MM, Timoney PJ. An electron microscopic study of viruses associated with canine gastroenteritis. *Cornell Vet* 1983; 73: 82-97.

Handa RJ, Burgess LH, Kerr JE, O'Keefe JA. Gonadal steroid hormone receptors and sex differences in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Horm Behav* 1994a; 28: 464-76.

Handa RJ, Nunley KM, Lorens SA, Louie JP, McGivern RF, Bollnow MR. Androgen regulation of adrenocorticotropin and corticosterone secretion in the male rat following novelty and foot shock stressors. *Physiol Behav* 1994b; 55: 117-24.

Happ GM. Thyroiditis—a model canine autoimmune disease. *Adv Vet Sci Comp Med* 1995; 39: 97-139.

Harder TC, Kuczka A, Dubberke M, Pohlenz J, Liess B. Ein Ausbruch von Hundestaupe in einem Tierheim mit vakzinierter Hundepopulation. Kleintierprax 1991; 305-14.

Harris J, Sengar D, Stewart T, Hyslop D. The effect of immunosuppressive chemotherapy on immune function in patients with malignant disease. Cancer 1976; 37: 1058-69.

Harrus S, Waner T, Aizenberg, Safra N, Mosenco A, Radoshitzky M, Bark H. Development of hypertrophic osteodystrophy and antibody response in a litter of vaccinated Weimaraner puppies. J Small Anim Pract 2002; 43: 27-31.

Have P, Andersen AB. Parvovirus-diarre hos hunde I Danmark. Forekomst, samt laboratorie-diagnostik belyst ved en undersogelse af virusudskillelse med feces. 14th Nordiske Veterinaer Kongress 1982. 148-51.

Hayes MA, Russell RG, Babiuk LA. Sudden death in young dogs with myocarditis caused by parvovirus. J Am Vet Med Assoc 1979; 174: 1197-203.

Heaton PR, Blount DG, Devlin P, Koelsch S, Mann SJ, Smith BH, Stevenson J, Harper EJ. Assessing age-related changes in peripheral blood leukocyte phenotypes in Labrador Retriever dogs using flow cytometry. J Nutr 2002; 132: 1655S-7S.

Heayns B. Serology - What is it and how can it be used in canine vaccination? VNJ 2012; 27: 190-3.

Heayns BJ, Baugh S. Survey of veterinary surgeons on the introduction of serological testing to assess revaccination requirements. Vet Rec 2012; 170: 74.

Heddle RJ, Rowley D. Dog immunoglobulins. I. Immunochemical characterization of dog serum, parotid saliva, colostrum, milk and small bowel fluid. Immunology 1975; 29: 185-95.

Heininger U, Löwer J, Spiess H. Historie und Zukunft von Schutzimpfungen. In: Impfkompodium, 6., vollständig überarbeitete und erweiterte edn. Spiess H, Heininger U, eds. Stuttgart, Deutschland: Georg Thieme Verlag KG 2005: 1-8.

Heldens JG, Patel JR, Chanter N, Ten Thij GJ, Gravendijck M, Schijns VE, Langen A, Schetters TP. Veterinary vaccine development from an industrial perspective. *Vet J* 2008; 178: 7-20.

Helfer-Baker C, Evermann JF, McKeirnan AJ, Morrison WB, Slack RL, Miller CW. Serological studies on the incidence of canine enteritis viruses. *Canine Pract* 1980; 7: 37-8, 40-2.

Hendrick MJ, Dunagan CA. Focal necrotizing granulomatous panniculitis associated with subcutaneous injection of rabies vaccine in cats and dogs: 10 cases (1988-1989). *J Am Vet Med Assoc* 1991; 198: 304-5.

Hendrick MJ, Brooks JJ. Postvaccinal sarcomas in the cat: Histology and immunohistochemistry. *Vet Pathol* 1994; 31: 126-9.

Hendrick MJ. Feline vaccine-associated sarcomas: Current studies on pathogenesis. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213: 1425-6.

Hendrick MJ. Feline vaccine-associated sarcomas. *Cancer Invest* 1999; 17: 273-7.

Hendrick MJ. Musings on feline injection site sarcomas. *Vet J* 2011; 188: 130-1.

Henken AM, Groote Schaarsberg AM, Nieuwland MG. The effect of environmental temperature on immune response and metabolism of the young chicken. 3. Effect of environmental temperature on the humoral immune response following injection of sheep red blood cells. *Poult Sci* 1983; 62: 51-8.

Henry CJ, McCaw DL, Brock KV, Stoker AM, Tyler JW, Tate DJ, Higginbotham ML. Association between cancer chemotherapy and canine distemper virus, canine

parvovirus, and rabies virus antibody titers in tumor-bearing dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 219: 1238-41.

Herdegen T. Immunmodulatoren (rheumatoide Arthritis, Immunerkrankungen). In: *Kurzlehrbuch Pharmakologie und Toxikologie*, 3., vollständig überarbeitete und erweiterte edn. Herdegen T, ed. Stuttgart, Deutschland: Georg Thieme Verlag KG 2014: 511-28.

Hernández-Blanco B, Catala-López F. Are licensed canine parvovirus (CPV2 and CPV2b) vaccines able to elicit protection against CPV2c subtype in puppies?: A systematic review of controlled clinical trials. *Vet Microbiol* 2015; 180: 1-9.

Hessing MJ, Coenen GJ, Vaiman M, Renard C. Individual differences in cell-mediated and humoral immunity in pigs. *Vet Immunol Immunopathol* 1995; 45: 97-113.

Hill JE, Lomax LG, Cole RJ, Dorner JW. Toxicologic and immunologic effects of sublethal doses of cyclopiazonic acid in rats. *Am J Vet Res* 1986; 47: 1174-7.

Hirasawa T, Azetaka M, Konishi S. Prevalence and conversion of canine parvovirus antibody in various dog colonies in Japan. *Nihon Juigaku Zasshi* 1982; 44: 997-1001.

Hirasawa T, Kaneshige T, Mikazuki K. Sensitive detection of canine parvovirus DNA by the nested polymerase chain reaction. *Vet Microbiol* 1994; 41: 135-45.

Hirasawa T, Yono K, Mikazuki K. Differentiation of wild- and vaccine-type canine parvoviruses by PCR and restriction-enzyme analysis. *Zentralbl Veterinarmed B* 1995; 42: 601-10.

Hoang M, Lin WH, Le VP, Nga BTT, Chiou MT, Lin CN. Molecular epidemiology of canine parvovirus type 2 in Vietnam from November 2016 to February 2018. *Virol J* 2019; 16: 52.



Hoare CM, DeBouck P, Wiseman A. Immunogenicity of a low-passage, high-titer modified live canine parvovirus vaccine in pups with maternally derived antibodies. *Vaccine* 1997; 15: 273-5.

Hodgins DC, Shewen PE. Vaccination of neonates: Problem and issues. *Vaccine* 2012; 30: 1541-59.

Hoelzer K, Parrish CR. The emergence of parvoviruses of carnivores. *Vet Res* 2010; 41: 39.

Hoffman-Goetz L, Pedersen BK. Exercise and the immune system: A model of the stress response? *Immunol Today* 1994; 15: 382-7.

Hoffmann A, Werner E, Mergel A, Cußler K. Unerwünschte Wirkungen nach Applikation immunologischer Arzneimittel beim Tier. Zusammenfassung der Meldungen im Zeitraum von 1998 bis 2002. *DTBI* 2003; 12: 1246-51.

Hoffmann A, Mergel A, Cußler K. Unerwünschte Wirkungen nach Applikation immunologischer Arzneimittel beim Tier. Zusammenfassung der 2003 eingegangenen Meldungen. *DTBI* 2005a; 1: 14-6.

Hoffmann A, Mergel A, Cußler K. Unerwünschte Wirkungen nach Applikation immunologischer Arzneimittel beim Tier. Zusammenfassung der im Jahr 2004 im Paul-Ehrlich-Institut eingegangenen Meldungen. *DTBI* 2005b; 12: 1358-61.

Hoffmann A, Mergel A, Cußler K. Unerwünschte Wirkungen nach Applikation immunologischer Arzneimittel beim Tier. Zusammenfassung der im Jahr 2005 im Paul-Ehrlich-Institut eingegangenen Meldungen. *DTBI* 2006; 11: 1338-42.

Hoffmann A, Mergel A, Cußler K. Pharmakovigilanzreport Tierimpfstoffe. Zur Statistik der im Jahr 2006 im Paul-Ehrlich-Institut eingegangenen Meldungen. *DTBI* 2007; 12: 1536-9.

Hoffmann A, Mergel A, Cußler K. Pharmakovigilanzreport Tierimpfstoffe. Zur Analyse der im Jahr 2007 im Paul-Ehrlich-Institut eingegangenen Meldungen. DTBI 2008; 11: 1478-83.

Hoffmann A, Schönborn E, Mergel A, Cußler K. Pharmakovigilanzreport Tierimpfstoffe. Analyse der im Jahr 2008 und 2009 im Paul-Ehrlich-Institut eingegangenen Meldungen. DTBI 2010; 6: 766-75.

Hoffmann A, Schwedinger E, Mergel A, Cußler K. Pharmakovigilanzreport Tierimpfstoffe. Analyse der im Jahr 2010 im Paul-Ehrlich-Institut eingegangenen Meldungen. DTBI 2011; 10: 1348-52.

Hoffmann A, Schwedinger E, Werner G, Cussler K. Pharmakovigilanzreport Tierimpfstoffe. Analyse der im Jahr 2011 im Paul-Ehrlich-Institut eingegangenen Meldungen. DTBI 2012; 11: 1554-9.

Hoffmann A, Schwedinger E, Werner G, Cußler K. Pharmakovigilanzreport Tierimpfstoffe. Analyse der Nebenwirkungsmeldungen vom Jahr 2012. DTBI 2013; 11: 1520-5.

Hoffmann A, Schwedinger E, Werner G, Cußler K. Pharmakovigilanzreport Tierimpfstoffe. Analyse der Nebenwirkungsmeldungen in den Jahren 2013 und 2014. DTBI 2015; 11: 1564-8.

Hoffmann A, Schwedinger E, Werner G, Cußler K. Pharmakovigilanzreport Tierimpfstoffe. Analyse der Nebenwirkungsmeldungen im Jahr 2015. DTBI 2016; 8: 1176-8.

Hoffmann R, Frese K, Reinacher M, Krauss H. Parvovirusinfektion bei akuten Magen- und Darmerkrankungen des Hundes. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 1980; 93: 121-5.

Hogan JS, Weiss WP, Smith KL, Todhunter DA, Schoenberger PS, Williams SN.

Vitamin E as an adjuvant in an Escherichia coli J5 vaccine. J Dairy Sci 1993; 76: 401-7.

HogenEsch H, Azcona-Olivera J, Scott-Moncrieff C, Snyder PW, Glickman LT. Vaccine-induced autoimmunity in the dog, in: Adverse vaccine reactions, failures, and postmarketing surveillance. In: Advances in Veterinary Medicine, Volume 41, Veterinary Vaccines and Diagnostics, 1999/01/16 edn. Schultz RD, ed. San Diego, Kalifornien, USA: Academic Press 1999: 733-47.

HogenEsch H, Dunham AD, Scott-Moncrieff C, Glickman LT, DeBoer DJ. Effect of vaccination on serum concentrations of total and antigen-specific immunoglobulin E in dogs. Am J Vet Res 2002; 63: 611-6.

HogenEsch H, Thompson S, Dunham A, Ceddia M, Hayek M. Effect of age on immune parameters and the immune response of dogs to vaccines: A cross-sectional study. Vet Immunol Immunopathol 2004; 97: 77-85.

HogenEsch H, Thompson S. Effect of ageing on the immune response of dogs to vaccines. J Comp Pathol 2010; 142: S74-7.

Holm A. Bivirkninger ved vaccination af tysk pincher. Dansk veterinaertidsskrift 2006; 89: 36-7.

Holmes DF, Schultz RD, Cummings JF, deLahunta A. Experimental coonhound paralysis: Animal model of Guillain-Barré syndrome. Neurology 1979; 29: 1186-7.

Homo-Delarche F. Immunologie du vieillissement. In: Immunologie animale. Pastoret PP, Govaerts A, Bazin H, eds. Paris, Frankreich: Flammarion Médecine-Sciences 1990: 205-9.

Hong C, Decaro N, Desario C, Tanner P, Pardo MC, Sanchez S, Buonavoglia C, Saliki JT. Occurrence of canine parvovirus type 2c in the United States. J Vet Diagn

Invest 2007; 19: 535-9.

Hopkins KL, Laher F, Ot wombe K, Churchyard G, Bekker LG, DeRosa S, Nchabeleng M, Mlisana K, Kublin J, Gray G. Predictors of HVTN 503 MRK-AD5 HIV-1 gag/pol/nef vaccine induced immune responses. PLoS One 2014; 9: e103446.

Horgan JE, Roberts BK, Schermerhorn T. Splenectomy as an adjunctive treatment for dogs with immune-mediated hemolytic anemia: Ten cases (2003-2006). J Vet Emerg Crit Care (San Antonio) 2009; 19: 254-61.

Horiuchi Y, Nakajima Y, Nariai Y, Asanuma H, Kuwabara M, Yukawa M. Th1/Th2 balance in canine peripheral blood lymphocytes—a flow cytometric study. Vet Immunol Immunopathol 2007; 118: 179-85.

Horner GW. Canine parvovirus in New Zealand: Epidemiological features and diagnostic methods. N Z Vet J 1983; 31: 164-6.

Horohov DW, Keadle TL, Pourciau SS, Littlefield-Chabaud MA, Kamerling SG, Keowen ML, French DD, Melrose PA. Mechanism of exercise-induced augmentation of lymphokine activated killer (LAK) cell activity in the horse. Vet Immunol Immunopathol 1996; 53: 221-33.

Horzinek MC, Schijns VECJ, Denis M, Desmettre P, Babiuk LA. Categories of vaccines, in: General description of vaccines. In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997a: 132-5, Referenzen: 148-52.

Horzinek MC, Schijns VECJ, Denis M, Desmettre P, Babiuk LA. Applications of vaccines., in: General description of vaccines. In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997b: 135-6, Referenzen: 148-52.

Horzinek MC, Schijns VECJ, Denis M, Desmettre P, Babiuk LA. Adjuvants and vehicles, in: General description of vaccines. In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997c: 140-7, Referenzen: 148-52.

Horzinek MC. Vaccination: A philosophical view, in: Vaccines and diagnostics. Historic and contemporary perspectives. In: Advances in Veterinary Medicine, Volume 41, Veterinary Vaccines and Diagnostics. Schultz RD, ed. San Diego, Kalifornien, USA: Academic Press 1999: 1-6.

Horzinek MC. Vaccine use and disease prevalence in dogs and cats. Vet Microbiol 2006; 117: 2-8.

Hoskins JD. Performance of a new generation canine parvovirus vaccine in Rottweiler puppies. Canine Pract 1997; 22: 29-31.

Houston DM, Ribble CS, Head LL. Risk factors associated with parvovirus enteritis in dogs: 283 cases (1982-1991). J Am Vet Med Assoc 1996; 208: 542-6.

Hovi L, Valle M, Siimes MA, Jalanko H, Saarinen UM. Impaired response to hepatitis B vaccine in children receiving anticancer chemotherapy. Pediatr Infect Dis J 1995; 14: 931-5.

Huang AA, Moore GE, Scott-Moncrieff JC. Idiopathic immune-mediated thrombocytopenia and recent vaccination in dogs. J Vet Intern Med 2012; 26: 142-8.

Hughes RA, Charlton J, Latinovic R, Gulliford MC. No association between immunization and Guillain-Barré syndrome in the United Kingdom, 1992 to 2000. Arch Intern Med 2006; 166: 1301-4.

Hulbert LE, Carroll JA, Burdick NC, Randel RD, Brown MS, Ballou MA. Innate immune responses of temperamental and calm cattle after transportation. Vet

Immunol Immunopathol 2011; 143: 66-74.

Hurley KE, Pesavento PA, Pedersen NC, Poland AM, Wilson E, Foley JE. An outbreak of virulent systemic feline calicivirus disease. J Am Vet Med Assoc 2004; 224: 241-9.

Hurley KF, Sykes JE. Update on feline calicivirus: New trends. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2003; 33: 759-72.

Hurley KF. Outbreak management. In: Infectious Disease Management in Animal Shelters, 1st edn. Miller L, Hurley KF, eds. Ames, Iowa, USA: Wiley-Blackwell 2009: 39-48.

Hurley WL, Theil PK. Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. Nutrients 2011; 3: 442-74.

Hustead DR. What you can and cannot learn from reading a vaccine label. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2001; 31: 539-56.

IDT Biologika GmbH. Gebrauchsinformation Feliserin Plus. 2017. Verfügbar unter:

[https://portal.dimdi.de/websearch/servlet/Gate;jsessionid=D882C8A537614C87AF9B687EBCDBFE58?accessid=pharmnet\\_par\\_freeinfo&query=enr=2603460](https://portal.dimdi.de/websearch/servlet/Gate;jsessionid=D882C8A537614C87AF9B687EBCDBFE58?accessid=pharmnet_par_freeinfo&query=enr=2603460)  
[abgerufen am 05.05.2019].

Iida H, Fukuda S, Kawashima N, Yamazaki T, Aoki J, Tokita K, Morioka K, Takarada N, Soeda T. [Effect of maternally derived antibody levels on antibody responses to canine parvovirus, canine distemper virus and infectious canine hepatitis virus after vaccinations in Beagle puppies]. Jikken Dobutsu 1990; 39: 9-19.

Ilott M. Efficacy of vaccination against canine parvovirus. Vet Rec 2006; 159: 722-3.

Initiative tiermedizinische Schmerztherapie (ITIS). Empfehlungen für die Schmerztherapie bei Kleintieren. 2012. Verfügbar unter: <https://www.itis.de/empfehlungen-fuer-schmerztherapie-kleintieren-2012> [abgerufen am 16.06.2019].

Institute of Medicine. Evidence concerning rubella vaccines and arthritis, radiculoneuritis, and thrombocytopenic purpura. In: Adverse Effects of Pertussis and Rubella Vaccines. A Report of the Committee to Review the Adverse Consequences of Pertussis and Rubella Vaccines. Howson CP, Howe CJ, Fineberg HV, eds. Washington, D.C., USA: The National Academies Press 1991: 187-205.

Institute of Medicine. Contents of reports. In: Immunization Safety Review: Influenza Vaccines and Neurological Complications. Stratton K, Alamaro DA, Wizemann T, McCormick MC, eds. Washington, D.C., USA: The National Academies Press 2004: 23-146.

Institute of Medicine. Evaluating biological mechanisms of adverse events. In: Adverse Effects of Vaccines: Evidence and Causality. Stratton K, Ford A, Rusch E, Clayton EW, eds. Washington, D.C., USA: The National Academies Press 2012: 57-102.

Intervet Deutschland GmbH. Fachinformation zu Nobivac® SHP. 2015. Verfügbar unter: [https://portal.dimdi.de/websearch/servlet/Gate;jsessionid=ECEC0D7BEB4327C2DF17CCA1CE50DB0D?accessid=pharmnet\\_par\\_freeinfo&query=enr=2603542](https://portal.dimdi.de/websearch/servlet/Gate;jsessionid=ECEC0D7BEB4327C2DF17CCA1CE50DB0D?accessid=pharmnet_par_freeinfo&query=enr=2603542) [abgerufen am 07.09.2019].

Ishibashi K, Maede Y, Ohsugi T, Onuma M, Mikami T. Serotherapy for dogs infected with canine parvovirus. Nihon Juigaku Zasshi 1983; 45: 59-66.

Ishihara M, Fujino Y, Setoguchi A, Takahashi M, Nakashima K, Ohno K, Tsujimoto H. Evaluation of prognostic factors and establishment of a prognostic scoring system for canine primary immune-mediated hemolytic anemia. J Vet Med Sci 2010; 72: 465-70.

Ishiwata K, Minagawa T, Kajimoto T. Clinical effects of the recombinant feline interferon-omega on experimental parvovirus infection in Beagle dogs. *J Vet Med Sci* 1998; 60: 911-7.

Jackson ML, Kruth SA. Immune-mediated hemolytic anemia and thrombocytopenia in the dog: A retrospective study of 55 cases diagnosed from 1979 through 1983 at the Western College of Veterinary Medicine. *Can Vet J* 1985; 26: 245-50.

Jacobs TM, Poehlmann CE, Kiupel M. Injection-site sarcoma in a dog: Clinical and pathological findings. *Case reports in veterinary medicine* 2017; 2017: 6952634.

Jadavji T, Scheifele D, Halperin S. Thrombocytopenia after immunization of Canadian children, 1992 to 2001. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 119-22.

Jakel V, Cussler K, Hanschmann KM, Truyen U, König M, Kamphuis E, Duchow K. Vaccination against feline panleukopenia: Implications from a field study in kittens. *BMC Vet Res* 2012; 8: 62.

Jélinek F. Postinflammatory sarcoma in cats. *Exp Toxicol Pathol* 2003; 55: 167-72.

Jensen-Waern M, Nyberg L. Valuable indicators of physical stress in porcine plasma. *Zentralbl Veterinarmed A* 1993; 40: 321-7.

Jin H, Xu Y, Shi F, Hu S. Vaccination at different anatomic sites induces different levels of the immune responses. *Res Vet Sci* 2019; 122: 50-5.

João Vieira M, Silva E, Oliveira J, Luísa Vieira A, Decaro N, Desario C, Muller A, Carvalheira J, Buonavoglia C, Thompson G. Canine parvovirus 2c infection in central Portugal. *J Vet Diagn Invest* 2008; 20: 488-91.

Johannsen R, Haupt H, Bohn H, Heide K, Seiler FR, Schwick HG. Inhibition of the mixed leukocyte culture (MLC) by proteins: Mechanism and specificity of the reaction. *Z Immunitätsforsch Immunobiol* 1976; 152: 280-5.



Johnson RH, Spradbrow PB. Isolation from dogs with severe enteritis of a parvovirus related to feline panleucopenia virus. *Aust Vet J* 1979; 55: 151-2.

Jones BE. Platelet aggregation in dogs after live-virus vaccination. *Acta Vet Scand* 1984; 25: 504-9.

Jones BR, Robinson AJ, Fray LM, Lee EA. A longitudinal serological survey of parvovirus infection in dogs. *N Z Vet J* 1982; 30: 19-20.

Juurlink DN, Stukel TA, Kwong J, Kopp A, McGeer A, Upshur RE, Manuel DG, Moineddin R, Wilson K. Guillain-Barré syndrome after influenza vaccination in adults: A population-based study. *Arch Intern Med* 2006; 166: 2217-21.

Jyonouchi H, Zhang L, Gross M, Tomita Y. Immunomodulating actions of carotenoids: Enhancement of in vivo and in vitro antibody production to T-dependent antigens. *Nutr Cancer* 1994; 21: 47-58.

Kahn DE, Emergy JB, Smith MJ, Spotts AM. Safety and efficacy of modified-live canine parvovirus vaccine. *Vet Med* 1983; 78: 1739-46.

Kalli I, Leontides LS, Mylonakis ME, Adamama-Moraitou K, Rallis T, Koutinas AF. Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection. *Res Vet Sci* 2010; 89: 174-8.

Kanellos T, Robinson AJ, Chipanga P, Thevassagayam S. Use of a MLV vaccine in 6 weeks old puppies with CPV MDAs prevents clinical disease. 31st Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), Prag, Tschechische Republik 2006a. Verfügbar unter: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11223&meta=generic&catId=31439&id=3859174&ind=421&objTypeID=17> [abgerufen am 25.07.2019].

Kanellos T, Robinson A, Chipanga P, Thevassagayam S. An MLV vaccine elicits a

protective serological response to CPV earlier than three other vaccines. 31st Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), Prag, Tschechische Republik 2006b. Verfügbar unter: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11223&meta=generic&id=3859172> [abgerufen am 25.07.2019].

Kanellos T, Robinson A, Chipanga P, Thevassagayam S. The core antigens of a multivalent canine vaccine provide at least 48 months duration of immunity. 31st Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), Prag, Tschechische Republik 2006c. Verfügbar unter: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11223&meta=generic&id=3859173> [abgerufen am 25.07.2019].

Kanellos T, Robinson A, Chipanga P, Thevassagayam S. Vaccination of puppies at 7 and 10 weeks with a multivalent vaccine gives protective seroconversion. 31st Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), Prag, Tschechische Republik 2006d. Verfügbar unter: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11223&meta=generic&id=3859175> [abgerufen am 25.07.2019].

Kanesa-athan N, Sun W, Kim-Ahn G, Van Albert S, Putnak JR, King A, Raengsakulrach B, Christ-Schmidt H, Gilson K, Zahradnik JM, Vaughn DW, Innis BL, Saluzzo JF, Hoke CH, Jr. Safety and immunogenicity of attenuated dengue virus vaccines (Aventis Pasteur) in human volunteers. *Vaccine* 2001; 19: 3179-88.

Kang BK, Song DS, Lee CS, Jung KI, Park SJ, Kim EM, Park BK. Prevalence and genetic characterization of canine parvoviruses in Korea. *Virus Genes* 2008; 36: 127-33.

Kannegieter NJ, Schaaf KL, Lovell DK, Simon CD, Stone BM. Myofibroblastic fibrosarcoma with multifocal osseous metaplasia at the site of equine influenza vaccination. *Aust Vet J* 2010; 88: 132-6.

Kano A. Tumor cell secretion of soluble factor(s) for specific immunosuppression.

Sci Rep 2015; 5: 8913.

Kapil S, Cooper E, Lamm C, Murray B, Rezabek G, Johnston L, 3rd, Campbell G, Johnson B. Canine parvovirus types 2c and 2b circulating in North American dogs in 2006 and 2007. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 4044-7.

Kapil S, Cooper E. Vaccines containing canine parvovirus genetic variants. Internationales Patent WO2008157236A1. The Board of Regents for Oklahoma State University, Whitehurst, Oklahoma State University, Oklahoma, USA. 2008. Verfügbar unter: <https://patents.google.com/patent/WO2008157236A1> [abgerufen am 28. 08.2019].

Kaplan JE, Katona P, Hurwitz ES, Schonberger LB. Guillain-Barré syndrome in the United States, 1979-1980 and 1980-1981. Lack of an association with influenza vaccination. *JAMA* 1982; 248: 698-700.

Karayannopoulou M, Anagnostou T, Margariti A, Kostakis C, Kritsepi-Konstantinou M, Psalla D, Savvas I. Evaluation of blood T-lymphocyte subpopulations involved in host cellular immunity in dogs with mammary cancer. *Vet Immunol Immunopathol* 2017; 186: 45-50.

Kasakura S. A factor in maternal plasma during pregnancy that suppresses the reactivity of mixed leukocyte cultures. *J Immunol* 1971; 107: 1296-301.

Kass PH, Barnes WG, Jr., Spangler WL, Chomel BB, Culbertson MR. Epidemiologic evidence for a causal relation between vaccination and fibrosarcoma tumorigenesis in cats. *J Am Vet Med Assoc* 1993; 203: 396-405.

Kass PH, Spangler WL, Hendrick MJ, McGill LD, Esplin DG, Lester S, Slater M, Meyer EK, Boucher F, Peters EM, Gobar GG, Htoo T, Decile K. Multicenter case-control study of risk factors associated with development of vaccine-associated sarcomas in cats. *J Am Vet Med Assoc* 2003; 223: 1283-92.

Kaur G, Chandra M, Dwivedi PN, Sharma NS. Antigenic typing of canine parvovirus using differential PCR. *VirusDis* 2014; 25: 481-7.

Kazacos KR, Thacker HL, Shivaprasad HL, Burger PP. Vaccination-induced distemper in kinkajous. *J Am Vet Med Assoc* 1981; 179: 1166-9.

Keadle TL, Pourciau SS, Melrose PA, Kammerling SG, Horohov DW. Acute exercises stress modulates immune function in unfit horses. *J Equine Vet Sci* 1993; 13: 226-31.

Kealy RD, Lawler DF, Ballam JM, Mantz SL, Biery DN, Greeley EH, Lust G, Segre M, Smith GK, Stowe HD. Effects of diet restriction on life span and age-related changes in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2002; 220: 1315-20.

Kearns RJ, Hayek MG, Turek JJ, Meydani M, Burr JR, Greene RJ, Marshall CA, Adams SM, Borgert RC, Reinhart GA. Effect of age, breed and dietary omega-6 (n-6): omega-3 (n-3) fatty acid ratio on immune function, eicosanoid production, and lipid peroxidation in young and aged dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 1999; 69: 165-83.

Kearns RJ, Loos KM, Chew BP, Massimino S, Burr JR, Hajek MG. The effect of age and dietary beta-carotene on immunological parameters in the dog. In: *Recent Advances in Canine and Feline Nutrition*, vol. III, IAMS Nutrition Symposium Proceedings. Carey DP, Reinhart GA, eds. Wilmington, Ohio, USA: Orange Frazer Press 2000: 389-401.

Keating GM, Noble S. Recombinant hepatitis B vaccine (Engerix-B): A review of its immunogenicity and protective efficacy against hepatitis B. *Drugs* 2003; 63: 1021-51.

Keller SE, Weiss JM, Schleifer SJ, Miller NE, Stein M. Stress-induced suppression of immunity in adrenalectomized rats. *Science* 1983; 221: 1301-4.

Kelley KW. Stress and immune function: A bibliographic review. *Ann Rech Vet* 1980; 11: 445-78.

Kelly GE. The effect of surgery in dogs on the response to concomitant distemper vaccination. *Aust Vet J* 1980; 56: 556-7.

Kelly WR. An enteric disease of dogs resembling feline panleucopaenia. *Aust Vet J* 1978; 54: 593.

Kelso JM. Administering influenza vaccine to egg-allergic persons. *Expert Rev Vaccines* 2014; 13: 1049-57.

Kemppainen RJ, Young DW, Behrend EN, Clark TP, Smiley SD. Autoantibodies to triiodothyronine and thyroxine in a Golden Retriever. *J Am Anim Hosp Assoc* 1996; 32: 195-8.

Kennedy LJ, Carter SD, Barnes A, Bell S, Bennett D, Ollier B, Thomson W. Interbreed variation of DLA-DRB1, DQA1 alleles and haplotypes in the dog. *Vet Immunol Immunopathol* 1999a; 69: 101-11.

Kennedy LJ, Carter SD, Barnes A, Bell S, Bennett D, Ollier B, Thomson W. DLA-DRB1 polymorphisms in dogs defined by sequence-specific oligonucleotide probes (SSOP). *Tissue Antigens* 1999b; 53: 184-9.

Kennedy LJ, Barnes A, Happ GM, Quinnell RJ, Bennett D, Angles JM, Day MJ, Carmichael N, Innes JF, Isherwood D, Carter SD, Thomson W, Ollier WE. Extensive interbreed, but minimal intrabreed, variation of DLA class II alleles and haplotypes in dogs. *Tissue Antigens* 2002a; 59: 194-204.

Kennedy LJ, Barnes A, Happ GM, Quinnell RJ, Courtenay O, Carter SD, Ollier WE, Thomson W. Evidence for extensive DLA polymorphism in different dog populations. *Tissue Antigens* 2002b; 60: 43-52.

Kennedy LJ, Lunt M, Barnes A, McElhinney L, Fooks AR, Ollier WE. Do dogs vary in their response to rabies vaccination? 48th Congress of the British Small Animal Veterinary Association (BSAVA), Birmingham, United Kingdom 2005. 550.

Kennedy LJ, Lunt M, Barnes A, McElhinney L, Fooks AR, Baxter DN, Ollier WE. Factors influencing the antibody response of dogs vaccinated against rabies. *Vaccine* 2007; 25: 8500-7.

Kesel ML, Neil DH. Combined MLV canine parvovirus vaccine: Immunosuppression with infective shedding. *Vet Med Small Anim Clin* 1983; 78: 687-91.

Khakoo GA, Lack G. Recommendations for using MMR vaccine in children allergic to eggs. *BMJ* 2000; 320: 929-32.

Khoo C, Cunnick J, Friesen K, Gross KL, Wedekind K, Jewell DE. The role of supplementary dietary antioxidants on immune response in puppies. *Vet Ther* 2005; 6: 43-56.

Kidd L, Rasmussen R, Chaplow E, Richter K, Hill S, Slusser PG. Seasonality of immune-mediated hemolytic anemia in dogs from southern California. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2014; 24: 311-5.

Kiecolt-Glaser JK, Glaser R, Gravenstein S, Malarkey WB, Sheridan J. Chronic stress alters the immune response to influenza virus vaccine in older adults. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 3043-7.

Kijas JM, Bauer TR, Jr., Gäfvert S, Marklund S, Trowald-Wigh G, Johannisson A, Hedhammar A, Binns M, Juneja RK, Hickstein DD, Andersson L. A missense mutation in the beta-2 integrin gene (ITGB2) causes canine leukocyte adhesion deficiency. *Genomics* 1999; 61: 101-7.

Kilham L, Margolis G, Colby ED. Congenital infections of cats and ferrets by feline panleukopenia virus manifested by cerebellar hypoplasia. *Lab Invest* 1967; 17: 465-80.

Kilham L, Margolis G, Colby ED. Cerebellar ataxia and its congenital transmission in cats by feline panleukopenia virus. *J Am Vet Med Assoc* 1971; 158: S888-901.

Killey R, Mynors C, Pearce R, Nell A, Prentis A, Day MJ. Long-lived immunity to canine core vaccine antigens in UK dogs as assessed by an in-practice test kit. *J Small Anim Pract* 2018; 59: 27-31.

Kim D, Huey D, Oglesbee M, Niewiesk S. Insights into the regulatory mechanism controlling the inhibition of vaccine-induced seroconversion by maternal antibodies. *Blood* 2011; 117: 6143-51.

Kim HH, Yang DK, Seo BH, Cho IS. Serosurvey of rabies virus, canine distemper virus, parvovirus, and influenza virus in military working dogs in Korea. *J Vet Med Sci* 2018; 80: 1424-30.

Kim R, Emi M, Tanabe K. Cancer immunosuppression and autoimmune disease: Beyond immunosuppressive networks for tumour immunity. *Immunology* 2006; 119: 254-64.

Kim SG, Kang MH, Park HM. Comparative study of two point-of-care enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibodies against canine parvovirus and canine distemper virus. *Pak Vet J* 2017; 37: 405-10.

Kingma F, Catcott E. A paralytic syndrome in coonhounds. *N Am Vet* 1954; 35: 115-7.

Kinne J, Tarello W. Vaccine-associated fibrosarcoma in a lion (*Panthera leo*). *Rev Med Vet* 2007; 158: 73-4.

Klag AR, Giger U, Shofer FS. Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 42 cases (1986-1990). *J Am Vet Med Assoc* 1993; 202: 783-8.

Klinkhammer G. Edward Jenner: 200 Jahre Pockenschutz. *Dtsch Arztebl Int* 1996; 93: 3046.

Knight-Jones TJ, Edmond K, Gubbins S, Paton DJ. Veterinary and human vaccine evaluation methods. *Proc Biol Sci* 2014; 281: 20132839.

Knobel DL, Butler JRA, Lembo T, Critchlow R, Gompper ME. Dogs, disease, and wildlife. In: *Free-Ranging Dogs and Wildlife Conservation*, 1st edn. Gompper ME, ed. Oxford, United Kingdom: Oxford University Press 2014: 144-69.

Kohn B, Garner M, Lübke S, Schmidt MFG, Bennett D, Brunnberg L. Polyarthritis following vaccination in four dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2003; 16: 6-10.

Koller LD. Immunosuppression produced by lead, cadmium, and mercury. *Am J Vet Res* 1973; 34: 1457-8.

Koller LD. Chemical-induced immunomodulation. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 181: 1102-6.

Kona-Boun JJ, Silim A, Troncy E. Immunologic aspects of veterinary anesthesia and analgesia. *J Am Vet Med Assoc* 2005; 226: 355-63.

Koppen S, de Groot R, Neijens HJ, Nagelkerke N, van Eden W, Rumke HC. No epidemiological evidence for infant vaccinations to cause allergic disease. *Vaccine* 2004; 22: 3375-85.

Koptopoulos G, Papadopoulos O, Papanastasopoulou M, Cornwell HJ. Presence of antibody cross-reacting with canine parvovirus in the sera of dogs from Greece. *Vet Rec* 1986; 118: 332-3.



Korbelik J, Rand JS, Morton JM. Comparison of early socialization practices used for litters of small-scale registered dog breeders and nonregistered dog breeders. *J Am Vet Med Assoc* 2011; 239: 1090-7.

Krakovka S, Olsen RG, Axthelm MK, Rice J, Winters K. Canine parvovirus infection potentiates canine distemper encephalitis attributable to modified live-virus vaccine. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 180: 137-9.

Kreth HW. Immunität und Schutzimpfungen. In: *Impfkompendium*, 6., vollständig überarbeitete und erweiterte edn. Spiess H, Heininger U, eds. Stuttgart, Deutschland: Georg Thieme Verlag KG 2005: 9-23.

Kubota Y, Ohji H, Itoh K, Sasagawa I, Nakada T. Changes in cellular immunity during chemotherapy for testicular cancer. *Int J Urol* 2001; 8: 604-8.

Kumar M, Nandi S. Development of a SYBR Green based real-time PCR assay for detection and quantitation of canine parvovirus in faecal samples. *J Virol Methods* 2010a; 169: 198-201.

Kumar M, Nandi S. Molecular typing of canine parvovirus variants by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *Transbound Emerg Dis* 2010b; 57: 458-63.

Kumar M, Nandi S, Chidri S. Development of a polyclonal antibody-based AC-ELISA and its comparison with PCR for diagnosis of canine parvovirus infection. *Virol Sin* 2010; 25: 352-60.

Kumar M, Chidri S, Nandi S. A sensitive method to detect canine parvoviral DNA in faecal samples by nested polymerase chain reaction. *Indian J Biotechnol* 2011; 10: 183-7.

Kumar R, Burns EA. Age-related decline in immunity: Implications for vaccine responsiveness. *Expert Rev Vaccines* 2008; 7: 467-79.

Kurcz EV, Lawrence LM, Kelley KW, Miller PA. The effect of intense exercise on the cell-mediated immune response of horses. *Equine Vet J* 1988; 8: 237-9.

La Rocca C, Carbone F, Longobardi S, Matarese G. The immunology of pregnancy: Regulatory T cells control maternal immune tolerance toward the fetus. *Immunol Lett* 2014; 162: 41-8.

LaFond E, Breur GJ, Austin CC. Breed susceptibility for developmental orthopedic diseases in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2002; 38: 467-77.

Lamb JC, 4th, Marks TA, McConnell EE, Abeywickrama K, Moore JA. Toxicity of chlorinated phenoxy acids in combination with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in C57BL/6 male mice. *J Toxicol Environ Health* 1981; 8: 815-24.

Lamm CG, Rezabek GB. Parvovirus infection in domestic companion animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2008; 38: 837-50.

Langeveld JP, Casal JI, Cortés E, van de Wetering G, Boshuizen RS, Schaaper WM, Dalsgaard K, Meloen RH. Effective induction of neutralizing antibodies with the amino terminus of VP2 of canine parvovirus as a synthetic peptide. *Vaccine* 1994a; 12: 1473-80.

Langeveld JP, Casal JI, Osterhaus AD, Cortés E, de Swart R, Vela C, Dalsgaard K, Puijk WC, Schaaper WM, Meloen RH. First peptide vaccine providing protection against viral infection in the target animal: Studies of canine parvovirus in dogs. *J Virol* 1994b; 68: 4506-13.

Langeveld JP, Brennan FR, Martínez-Torrecuadrada JL, Jones TD, Boshuizen RS, Vela C, Casal JI, Kamstrup S, Dalsgaard K, Meloen RH, Bendig MM, Hamilton WD. Inactivated recombinant plant virus protects dogs from a lethal challenge with canine parvovirus. *Vaccine* 2001; 19: 3661-70.

Langmuir AD, Bregman DJ, Kurland LT, Nathanson N, Victor M. An

epidemiologic and clinical evaluation of Guillain-Barré syndrome reported in association with the administration of swine influenza vaccines. *Am J Epidemiol* 1984; 119: 841-79.

Lappin MR, Jensen WA, Jensen TD, Basaraba RJ, Brown CA, Radecki SV, Hawley JR. Investigation of the induction of antibodies against Crandell-Rees feline kidney cell lysates and feline renal cell lysates after parenteral administration of vaccines against feline viral rhinotracheitis, calicivirus, and panleukopenia in cats. *Am J Vet Res* 2005; 66: 506-11.

Lappin MR. Use of serology for the prediction of canine and feline core vaccine needs. 31st Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), Prag, Tschechische Republik 2006. Verfügbar unter: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11223&meta=generic&id=3859051> [abgerufen am 25.07.2019].

Lappin MR, Basaraba RJ, Jensen WA. Interstitial nephritis in cats inoculated with Crandell Rees feline kidney cell lysates. *J Feline Med Surg* 2006; 8: 353-6.

Larkin TA, Ashcroft E, Hickey BA, Elgellaie A. Influence of gender, BMI and body shape on theoretical injection outcome at the ventrogluteal and dorsogluteal sites. *J Clin Nurs* 2018; 27: e242-50.

Larson LJ, Schultz RD. Closing the window of susceptibility. *Top Vet Med* 1996a; 7: 22-6.

Larson LJ, Schultz RD. High-titer canine parvovirus vaccine: Serologic response and challenge-of-immunity study. *Vet Med (Praha)* 1996b; 91: 210-8.

Larson LJ, Schultz RD. Comparison of selected canine vaccines for their ability to induce protective immunity against canine parvovirus infection. *Am J Vet Res* 1997; 58: 360-3.

Larson LJ, Sawchuck S, Schultz RD. Duration of vaccinal immunity in a population of clinic dogs. 83rd Annual Conference of Research Workers in Animal Diseases (CRWAD) St. Louis, Missouri, USA 2002. Verfügbar unter: <https://www.worldcat.org/title/proceedings-of-the-83rd-annual-meeting-november-10-1-and-2-2002-the-millennium-hotel-st-louis-st-louis-missouri/> [abgerufen am 04.01.19].

Larson LJ, Schultz RD. Three-year serologic immunity against canine parvovirus type 2 and canine adenovirus type 2 in dogs vaccinated with a canine combination vaccine. *Vet Ther* 2007; 8: 305-10.

Larson LJ, Schultz RD. Do two current canine parvovirus type 2 and 2b vaccines provide protection against the new type 2c variant? *Vet Ther* 2008; 9: 94-101.

Larson LJ, Newbury S, Schultz RD. Canine and feline vaccinations and immunology. In: *Infectious Disease Management in Animal Shelters*, 1st edn. Miller L, Hurley KF, eds. Ames, Iowa, USA: Wiley-Blackwell 2009: 61-82.

Larson RL, Bradley JS. Immunologic principles and immunization strategy. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1996; 18: 963-70.

Lasky T, Terracciano GJ, Magder L, Koski CL, Ballesteros M, Nash D, Clark S, Haber P, Stolley PD, Schonberger LB, Chen RT. The Guillain-Barré syndrome and the 1992-1993 and 1993-1994 influenza vaccines. *N Engl J Med* 1998; 339: 1797-802.

Latimer KS, Rakich PM, Purswell BJ, Kircher IM. Effects of cyclosporin A administration in cats. *Vet Immunol Immunopathol* 1986; 11: 161-73.

Laurenson K, Van Heerden J, Stander P, Van Vuuren MJ. Seroepidemiological survey of sympatric domestic and wild dogs (*Lycaon pictus*) in Tsumkwe District, north-eastern Namibia. *Onderstepoort J Vet Res* 1997; 64: 313-6.

Lawler DF, Larson BT, Ballam JM, Smith GK, Biery DN, Evans RH, Greeley EH, Segre M, Stowe HD, Kealy RD. Diet restriction and ageing in the dog: Major observations over two decades. *Br J Nutr* 2008; 99: 793-805.

Lechner ES, Crawford PC, Levy JK, Edinboro CH, Dubovi EJ, Caligiuri R. Prevalence of protective antibody titers for canine distemper virus and canine parvovirus in dogs entering a Florida animal shelter. *J Am Vet Med Assoc* 2010; 236: 1317-21.

Lederman MM, Schiffman G, Rodman HM. Pneumococcal immunization in adult diabetics. *Diabetes* 1981; 30: 119-21.

Lee CK, Klopp RG, Weindruch R, Prolla TA. Gene expression profile of aging and its retardation by caloric restriction. *Science* 1999; 285: 1390-3.

Lehane DE, Lane M. Immunocompetence in advanced cancer patients prior to chemotherapy. *Oncology* 1974; 30: 458-66.

Lenghaus C, Studdert MJ. Relationships of canine panleucopaenia (enteritis) and myocarditis paroviruses to feline panleucopaenia virus. *Aust Vet J* 1980; 56: 152-3.

Lenghaus C, Studdert MJ, Finnie JW. Acute and chronic canine parvovirus myocarditis following intrauterine inoculation. *Aust Vet J* 1980; 56: 465-8.

Leppänen M. Penikkatautirokotus ja pinserit. *TABU* 2005; 1: 28-9.

Lesourd BM. Nutrition and immunity in the elderly: Modification of immune responses with nutritional treatments. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 478S-84S.

Levy JK, Crawford PC, Collante WR, Papich MG. Use of adult cat serum to correct failure of passive transfer in kittens. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 219: 1401-5.

Levy JK, Crawford PC, Lappin MR, Dubovi EJ, Levy MG, Alleman R, Tucker SJ, Clifford EL. Infectious diseases of dogs and cats on Isabela Island, Galapagos. *J Vet Intern Med* 2008; 22: 60-5.

Lewis DC, Dhein CR, Evermann JF. Current concepts in vaccination programs for dogs, cats and ferrets. Part 2. *Companion Animal Practice (USA)* 1988; 2: 21-9.

Lewis RM, Smith CA, Garfield L. Kinetics of antibody synthesis to particulate and soluble antigen in newborn pups and adult dogs. *Am J Vet Res* 1973; 34: 235-40.

Li R, Humm KR. Canine parvovirus infection. In: *Small Animal Critical Care Medicine*, 2nd edn. Silverstein DC, Hopper K, eds. St. Louis, Missouri, USA: W.B. Saunders 2015: 509-13.

Liese J, Reinhardt D. Impfen und Allergien. In: *Impfkompodium*, 6., vollständig überarbeitete und erweiterte edn. Spiess H, Heininger U, eds. Stuttgart, Deutschland: Georg Thieme Verlag KG 2005: 55-66.

Lin YC, Chiang SY, Wu HY, Lin JH, Chiou MT, Liu HF, Lin CN. Phylodynamic and genetic diversity of canine parvovirus type 2c in Taiwan. *Int J Mol Sci* 2017; 18: e2703.

Ling M, Norris JM, Kelman M, Ward MP. Risk factors for death from canine parvoviral-related disease in Australia. *Vet Microbiol* 2012; 158: 280-90.

Linnemann CC, Jr., First MR, Schiffman G. Response to pneumococcal vaccine in renal transplant and hemodialysis patients. *Arch Intern Med* 1981; 141: 1637-40.

Linnemann CC, Jr., First MR, Schiffman G. Revaccination of renal transplant and hemodialysis recipients with pneumococcal vaccine. *Arch Intern Med* 1986; 146: 1554-6.

Litster AL, Nichols JJ, Volpe A. Prevalence of positive antibody test results for

canine parvovirus (CPV) and canine distemper virus (CDV) and response to modified live vaccination against CPV and CDV in dogs entering animal shelters. *Vet Microbiol* 2012a; 157: 86-90.

Litster AL, Pressler B, Volpe A, Dubovi E. Accuracy of a point-of-care ELISA test kit for predicting the presence of protective canine parvovirus and canine distemper virus antibody concentrations in dogs. *Vet J* 2012b; 193: 363-6.

Lo W, Whimbey E, Elting L, Couch R, Cabanillas F, Bodey G. Antibody response to a two-dose influenza vaccine regimen in adult lymphoma patients on chemotherapy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 12: 778-82.

Locasciulli A, Santamaria M, Masera G, Schiavon E, Alberti A, Realdi G. Hepatitis B virus markers in children with acute leukemia: The effect of chemotherapy. *J Med Virol* 1985; 15: 29-33.

Lucken R, Stolp R. Identification of extraneous agents and other contaminants, in: Manufacture and controls. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997a: 208-10, Referenzen: 219.

Lucken R, Stolp R. Potency and safety testing, in: Manufacture and controls. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997b: 212-4, Referenzen: 219.

Luff PR, Wood GW, Hebert CN, Thornton DH. Canine parvovirus serology: A collaborative assay. *Vet Rec* 1987; 120: 270-3.

Luff P, Soulebot JP. Good manufacturing practices, in: Manufacture and controls. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997a: 201-2, Referenzen: 219.

Luff P, Soulebot JP. Production and biosafety, in: Manufacture and controls. In:

Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997b: 202-4, Referenzen: 219.

Lund A. Forekommer bivirkninger etter vaksinasjon av Pinscher i Norge? Norsk veterinærtidsskrift 2009; 121: 536-8.

Lund JD, Prior M, Madsen L. Testing dogs for immunity against canine parvovirus, canine distemper virus and infectious canine hepatitis. 2012. Verfügbar unter: <https://www.vetsurgeon.org/w/veterinary-research/testing-dogs-for-immunity-against-canine-parvovirus-canine-distemper-virus-and-infectious-canine-hepatitis.aspx> [abgerufen am 27.04.2019].

Lundberg U, Frankenhaeuser M. Stress and workload of men and women in high-ranking positions. J Occup Health Psychol 1999; 4: 142-51.

Macartney L, McCandlish IA, Thompson H, Cornwell HJ. Canine parvovirus enteritis 2: Pathogenesis. Vet Rec 1984; 115: 453-60.

Macartney L, Thompson H, McCandlish IA, Cornwell HJ. Canine parvovirus: Interaction between passive immunity and virulent challenge. Vet Rec 1988; 122: 573-6.

Macintire DK, Smith-Carr S. Canine parvovirus. Part II. Clinical signs, diagnosis, and treatment. Compend Contin Educ Pract Vet 1997; 19: 219-302.

Macintire DK, Smith-Carr S, Jones R, Swango L. Treatment of dogs naturally infected with canine parvovirus with lyophilized canine IgG. 17th Annual Conference of the American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM), Chicago, USA 1999. 721.

Mackenzie AM, Drennan M, Rowan TG, Dixon JB, Carter SD. Effect of transportation and weaning on humoral immune responses of calves. Res Vet Sci 1997; 63: 227-30.



MacLachlan NJ, Dubovi EJ, Barthold SW, Swayne DE, Winton JR. Laboratory diagnosis of viral infections. In: Fenner's Veterinary Virology, 5th edn. MacLachlan NJ, Dubovi EJ, Barthold SW, Swayne DE, Winton JR, eds. London, United Kingdom: Academic Press, Imprint of Elsevier 2017: 105-29.

Macy DW, Hendrick MJ. The potential role of inflammation in the development of postvaccinal sarcomas in cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1996; 26: 103-9.

Maddison JE. Adverse drug reactions: Report of the Australian Veterinary Association Adverse Drug Reaction Subcommittee, 1993. *Aust Vet J* 1994; 71: 53-7.

Madewell BR, Theilen GH. Hematopoietic neoplasms, sarcomas and related conditions, in: Part V: Canine. In: *Veterinary Cancer Medicine*, 2nd edn. Theilen GH, Madewell BR, eds. Philadelphia, USA: Lea & Febiger 1987: 392-407.

Mahon JL, Rozanski EA, Paul AL. Prevalence of serum antibody titers against canine distemper virus and canine parvovirus in dogs hospitalized in an intensive care unit. *J Am Vet Med Assoc* 2017; 250: 1413-8.

Mann FA, Boon GD, Wagner-Mann CC, Ruben DS, Harrington DP. Ionized and total magnesium concentrations in blood from dogs with naturally acquired parvoviral enteritis. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 212: 1398-401.

Mann PC, Bush M, Appel MJ, Beehler BA, Montali RJ. Canine parvovirus infection in South American canids. *J Am Vet Med Assoc* 1980; 177: 779-83.

Mansfield KL, Burr PD, Snodgrass DR, Sayers R, Fooks AR. Factors affecting the serological response of dogs and cats to rabies vaccination. *Vet Rec* 2004; 154: 423-6.

Marckmann G. Festvortrag: Impfen – eine gesamtgesellschaftliche Verantwortung.

- Ethische Aspekte. 3. Nationale Impfkonzferenz, München, Deutschland 2013. 8-15.
- Mariotti S, Caturegli P, Piccolo P, Barbesino G, Pinchera A. Antithyroid peroxidase autoantibodies in thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71: 661-9.
- Markovich JE, Stucker KM, Carr AH, Harbison CE, Scarlett JM, Parrish CR. Effects of canine parvovirus strain variations on diagnostic test results and clinical management of enteritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2012; 241: 66-72.
- Marsh JA, Dietert RR, Combs GF, Jr. Influence of dietary selenium and vitamin E on the humoral immune response of the chick. *Proc Soc Exp Biol Med* 1981; 166: 228-36.
- Marshall HS, Clarke MF, Evans S, Piotto L, Gent RJ. Randomized trial using ultrasound to assess intramuscular vaccination at a 60° or 90° needle angle. *Vaccine* 2013; 31: 2647-52.
- Martella V, Cavalli A, Pratelli A, Bozzo G, Camero M, Buonavoglia D, Narcisi D, Tempesta M, Buonavoglia C. A canine parvovirus mutant is spreading in Italy. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1333-6.
- Martella V, Cavalli A, Decaro N, Elia G, Desario C, Campolo M, Bozzo G, Tarsitano E, Buonavoglia C. Immunogenicity of an intranasally administered modified live canine parvovirus type 2b vaccine in pups with maternally derived antibodies. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; 12: 1243-5.
- Martin V, Najbar W, Gueguen S, Grousseau D, Eun HM, Lebreux B, Aubert A. Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in a placebo-controlled challenge trial. *Vet Microbiol* 2002; 89: 115-27.
- Martinod S. Adverse effects of vaccination, in: Technical basis of vaccination. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997: 574-80.

Martinod S. Vaccination practices in veterinary medicine: Standardization versus tailored to needs?, in: Regulation, licensing, and standardization of vaccines and diagnostics. In: *Advances in Veterinary Medicine, Volume 41, Veterinary Vaccines and Diagnostics*. Schultz RD, ed. San Diego, Kalifornien, USA: Academic Press 1999: 657-68.

Martyn JC, Davidson BE, Studdert MJ. Nucleotide sequence of feline panleukopenia virus: Comparison with canine parvovirus identifies host-specific differences. *J Gen Virol* 1990; 71: 2747-53.

Maruyama M, Lam KP, Rajewsky K. Memory B-cell persistence is independent of persisting immunizing antigen. *Nature* 2000; 407: 636-42.

Mashaly MM. Effect of caponization on cell-mediated immunity of immature cockerels. *Poult Sci* 1984; 63: 369-72.

Massimino S, Kearns RJ, Loos KM, Burr J, Park JS, Chew B, Adams S, Hayek MG. Effects of age and dietary beta-carotene on immunological variables in dogs. *J Vet Intern Med* 2003; 17: 835-42.

Mastro JM, Axthelm M, Mathes LE, Krakowka S, Ladiges W, Olsen RG. Repeated suppression of lymphocyte blastogenesis following vaccinations of CPV-immune dogs with modified-live CPV vaccines. *Vet Microbiol* 1986; 12: 201-11.

May C, Hammill J, Bennett D. Chinese Shar-Pei fever syndrome: A preliminary report. *Vet Rec* 1992; 131: 586-7.

May C, Carter SD, Bell SC, Bennett D. Immune responses to canine distemper virus in joint diseases of dogs. *Br J Rheumatol* 1994; 33: 27-31.

Mayr A, Eißner G, Mayr-Bibrack B. *Handbuch der Schutzimpfungen in der Tiermedizin*. Berlin, Deutschland: P. Parey 1984.

Mayr A. Parvovirosen bei Hund und Katze: Probleme der Immunisierung. Tierärztl Prax 1989; 17: 399-402.

Mazar S, Larson L, Lavi Y. Sensitivity-specificity-accuracy and difference between positive and negative mean results of the ImmunoComb® Canine VacciCheck antibody test kit for canine distemper, parvo and adenovirus. 2009. Verfügbar unter: <http://vaccicheck.com.au/aboutus/publications/publications.html> [abgerufen am 27.04.2019].

McAnulty JF, Rudd RG. Thrombocytopenia associated with vaccination of a dog with a modified-live paramyxovirus vaccine. J Am Vet Med Assoc 1985; 186: 1217-9.

McCandlish IA, Thompson H, Cornwell HJ, Laird H, Wright NG. Isolation of a parvovirus from dogs in Britain. Vet Rec 1979; 105: 167-8.

McCandlish IA, Cornwell HJ, Thompson H, Nash AS, Lowe CM. Distemper encephalitis in pups after vaccination of the dam. Vet Rec 1992; 130: 27-30.

McCaw DL, Tate D, Dubovi EJ, Johnson JC. Early protection of puppies against canine parvovirus: A comparison of two vaccines. J Am Anim Hosp Assoc 1997; 33: 244-50.

McCaw DL, Thompson M, Tate D, Bonderer A, Chen YJ. Serum distemper virus and parvovirus antibody titers among dogs brought to a veterinary hospital for revaccination. J Am Vet Med Assoc 1998; 213: 72-5.

McGavin DR, Lavidis L. Attenuated canine parvovirus (CPV), vaccine comprising CPV and method of preventing infection by CPV in dogs. Internationales Patent WO1991002054A1. Arthur Webster Pty. Ltd., Castle Hill, New South Wales, Australien. 1991. Verfügbar unter: <https://patents.google.com/patent/WO1991002054A1> [abgerufen am 28.08.2019].

McKenzie EC, Jose-Cunilleras E, Hinchcliff KW, Holbrook TC, Royer C, Payton ME, Williamson K, Nelson S, Willard MD, Davis MS. Serum chemistry alterations in Alaskan sled dogs during five successive days of prolonged endurance exercise. *J Am Vet Med Assoc* 2007; 230: 1486-92.

McMillen GL, Briggs DJ, McVey DS, Phillips RM, Jordan FR. Vaccination of racing Greyhounds: Effects on humoral and cellular immunity. *Vet Immunol Immunopathol* 1995; 49: 101-13.

McMurray M. Weimaraner warning. *Can Vet J* 2001; 42: 417.

McRee A, Wilkes RP, Dawson J, Parry R, Foggin C, Adams H, Odoi A, Kennedy MA. Serological detection of infection with canine distemper virus, canine parvovirus and canine adenovirus in communal dogs from Zimbabwe. *J S Afr Vet Assoc* 2014; 85: 1110.

Medawar P. Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp Soc Exp Biol* 1953; 7: 320-38.

Medleau L, Dawe DL, Calvert CA. Immunosuppressive effects of cyclophosphamide, vincristine, and L-asparaginase in dogs. *Am J Vet Res* 1983; 44: 176-80.

Meers J, Kyaw-Tanner M, Bensink Z, Zwijnenberg R. Genetic analysis of canine parvovirus from dogs in Australia. *Aust Vet J* 2007; 85: 392-6.

Meggiolaro MN, Ly A, Rysnik-Steck B, Silva C, Zhang J, Higgins DP, Muscatello G, Norris JM, Krockenberger M, Šlapeta J. MT-PCR panel detection of canine parvovirus (CPV-2): Vaccine and wild-type CPV-2 can be difficult to differentiate in canine diagnostic fecal samples. *Mol Cell Probes* 2017; 33: 20-3.

Meloan RH. Synthetic peptide vaccines, in: Categories of products (mechanism of action, advantages/disadvantages). In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP,

Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997: 272-6, Referenzen: 278-84.

Mende K, Stuetzer B, Sauter-Louis C, Homeier T, Truyen U, Hartmann K. Prevalence of antibodies against feline panleukopenia virus in client-owned cats in Southern Germany. *Vet J* 2014; 199: 419-23.

Meunier PC, Glickman LT, Appel MJ, Shin SJ. Canine parvovirus in a commercial kennel: Epidemiologic and pathologic findings. *Cornell Vet* 1981; 71: 96-110.

Meunier PC, Cooper BJ, Appel MJ, Lanieu ME, Slauson DO. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: Sequential virus distribution and passive immunization studies. *Vet Pathol* 1985a; 22: 617-24.

Meunier PC, Cooper BJ, Appel MJ, Slauson DO. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: The importance of viremia. *Vet Pathol* 1985b; 22: 60-71.

Meydani SN, Barklund MP, Liu S, Meydani M, Miller RA, Cannon JG, Morrow FD, Rocklin R, Blumberg JB. Vitamin E supplementation enhances cell-mediated immunity in healthy elderly subjects. *Am J Clin Nutr* 1990; 52: 557-63.

Meydani SN, Hayek MG. Vitamin E and aging immune response. *Clin Geriatr Med* 1995; 11: 567-76.

Meydani SN, Meydani M, Blumberg JB, Leka LS, Siber G, Loszewski R, Thompson C, Pedrosa MC, Diamond RD, Stollar BD. Vitamin E supplementation and in vivo immune response in healthy elderly subjects. A randomized controlled trial. *JAMA* 1997; 277: 1380-6.

Meydani SN, Hajek MG, Dayong W, Meydani M. Vitamin E and immune response in aged dogs. In: *Recent Advances in Canine and Feline Nutrition*, vol. II, IAMS Nutrition Symposium Proceedings. Carey DP, Reinhart GA, eds. Wilmington, Ohio, USA: Orange Frazer Press 1998: 295-9.

Meyer EK. Vaccine-associated adverse events. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2001; 31: 493-514.

Migasena S, Simasathien S, Samakoses R, Pitisuttitham P, Sangaroon P, van Steenis G, Beuvery EC, Bugg H, Bishop R, Davidson BL, Vesikari T. Simultaneous administration of oral rhesus-human reassortant tetravalent (RRV-TV) rotavirus vaccine and oral poliovirus vaccine (OPV) in Thai infants. *Vaccine* 1995; 13: 168-74.

Mila H, Feugier A, Grellet A, Anne J, Gonnier M, Martin M, Rossig L, Chastant-Maillard S. Inadequate passive immune transfer in puppies: Definition, risk factors and prevention in a large multi-breed kennel. *Prev Vet Med* 2014a; 116: 209-13.

Mila H, Grellet A, Desario C, Feugier A, Decaro N, Buonavoglia C, Chastant-Maillard S. Protection against canine parvovirus type 2 infection in puppies by colostrum-derived antibodies. *J Nutr Sci* 2014b; 3: e54.

Mila H, Feugier A, Grellet A, Anne J, Gonnier M, Martin M, Rossig L, Chastant-Maillard S. Immunoglobulin G concentration in canine colostrum: Evaluation and variability. *J Reprod Immunol* 2015; 112: 24-8.

Mila H, Guard BC, Mariani C, Feugier A, Grellet A, Chastant-Maillard S, Steiner JM, Suchodolski J. Improvement of intestinal microbiota richness in puppies after oral hyper-immune plasma supplementation. 25th Congress of the European College of Veterinary Internal Medicine – Companion Animals (ECVIM-CA), Lissabon, Portugal 2015. *J Vet Intern Med* 2016a; 30: 360.

Mila H, Guard BC, Mariani C, Feugier A, Grellet A, Steiner JM, Suchodolski J, Chastant-Maillard S. Effect of oral hyper-immune plasma administration on intestinal microbiota and growth in puppies. 8th International Symposium on Canine and Feline Reproduction (ISCFR), Paris, Frankreich 2016b. 169.

Mila H, Oliver C, Feugier A, Mariani C, Grellet A, Chastant-Maillard S. Effect of the hyper-immune egg yolk supplementation on weight gain in neonate puppies.

8th International Symposium on Canine and Feline Reproduction (ISCFR), Paris, Frankreich 2016c. 170.

Mila H, Grellet A, Mariani C, Feugier A, Guard B, Suchodolski J, Steiner J, Chastant-Maillard S. Natural and artificial hyperimmune solutions: Impact on health in puppies. *Reprod Domest Anim* 2017; 52 S163-9.

Millán J, Chirife AD, Kalema-Zikusoka G, Cabezón O, Muro J, Marco I, Cliquet F, León-Vizcaíno L, Wasniewski M, Almería S, Mugisha L. Serosurvey of dogs for human, livestock, and wildlife pathogens, Uganda. *Emerg Infect Dis* 2013; 19: 680-2.

Miller E, Waight P, Farrington CP, Andrews N, Stowe J, Taylor B. Idiopathic thrombocytopenic purpura and MMR vaccine. *Arch Dis Child* 2001; 84: 227-9.

Miller GE, Cohen S, Pressman S, Barkin A, Rabin BS, Treanor JJ. Psychological stress and antibody response to influenza vaccination: When is the critical period for stress, and how does it get inside the body? *Psychosom Med* 2004; 66: 215-23.

Miller RA. Age-related changes in T cell surface markers: A longitudinal analysis in genetically heterogeneous mice. *Mech Ageing Dev* 1997; 96: 181-96.

Milne KL, Hayes HM, Jr. Epidemiologic features of canine hypothyroidism. *Cornell Vet* 1981; 71: 3-14.

Minagawa T, Ishiwata K, Kajimoto T. Feline interferon-omega treatment on canine parvovirus infection. *Vet Microbiol* 1999; 69: 51-3.

Mira F, Dowgier G, Purpari G, Vicari D, Di Bella S, Macaluso G, Gucciardi F, Randazzo V, Decaro N, Guercio A. Molecular typing of a novel canine parvovirus type 2a mutant circulating in Italy. *Infect Genet Evol* 2018; 61: 67-73.

Miranda C, Carvalheira J, Parrish CR, Thompson G. Factors affecting the



occurrence of canine parvovirus in dogs. *Vet Microbiol* 2015; 180: 59-64.

Miranda C, Thompson G. Canine parvovirus in vaccinated dogs: A field study. *Vet Rec* 2016a; 178: 397.

Miranda C, Thompson G. Canine parvovirus: The worldwide occurrence of antigenic variants. *J Gen Virol* 2016b; 97: 2043-57.

Miranda C, Parrish CR, Thompson G. Epidemiological evolution of canine parvovirus in the Portuguese domestic dog population. *Vet Microbiol* 2016; 183: 37-42.

Mitchell SA, Zwijnenberg RJ, Huang J, Hodge A, Day MJ. Duration of serological response to canine parvovirus-type 2, canine distemper virus, canine adenovirus type 1 and canine parainfluenza virus in client-owned dogs in Australia. *Aust Vet J* 2012; 90: 468-73.

Mittal M, Chakravarti S, Mohapatra JK, Chug PK, Dubey R, Upmanuyu V, Narwal PS, Kumar A, Churamani CP, Kanwar NS. Molecular typing of canine parvovirus strains circulating from 2008 to 2012 in an organized kennel in India reveals the possibility of vaccination failure. *Infect Genet Evol* 2014; 23: 1-6.

Miyaji K, Suzuki A, Shimakura H, Takase Y, Kiuchi A, Fujimura M, Kurita G, Tsujimoto H, Sakaguchi M. Large-scale survey of adverse reactions to canine non-rabies combined vaccines in Japan. *Vet Immunol Immunopathol* 2012; 145: 447-52.

Miyamoto T, Taura Y, Une S, Yoshitake M, Nakama S, Watanabe S. Changes in blastogenic responses of lymphocytes and delayed type hypersensitivity responses after vaccination in dogs. *J Vet Med Sci* 1992; 54: 945-50.

Miyamoto T, Taura Y, Une S, Yoshitake M, Nakama S, Watanabe S. Immunological responses after vaccination pre- and post-surgery in dogs. *J Vet*

Med Sci 1995; 57: 29-32.

Mocchegiani E, Muzzioli M, Giacconi R. Zinc and immunoresistance to infection in aging: New biological tools. Trends Pharmacol Sci 2000; 21: 205-8.

Mochizuki M, San Gabriel MC, Nakatani H, Yoshida M, Harasawa R. Comparison of polymerase chain reaction with virus isolation and haemagglutination assays for the detection of canine parvoviruses in faecal specimens. Res Vet Sci 1993; 55: 60-3.

Mochizuki M, Ohshima T, Une Y, Yachi A. Recombination between vaccine and field strains of canine parvovirus is revealed by isolation of virus in canine and feline cell cultures. J Vet Med Sci 2008; 70: 1305-14.

Mockett APA, Stahl MS. Comparing how puppies with passive immunity respond to three canine parvovirus vaccines. Vet Med 1995; 90: 430-8.

Mohammed JG, Ogbe AO, Zwandor NJ, Umoh JU. Risk factors associated with canine parvovirus enteritis in vom and environs. Anim Res Int 2005; 2: 366-8.

Mohan R, Nauriyal DC, Singh KB. Detection of canine parvo virus in faeces, using a parvo virus ELISA test kit. Indian Vet J 1993; 70: 301-3.

Mohri S, Handa S, Wada T, Tokiyoshi S. Sero-epidemiologic survey on canine parvovirus infection. Nihon Juigaku Zasshi 1982; 44: 543-5.

Monteiro K, Allendorf SD, Vicente AF, Appolinário CM, Peres MG, Cortez A, Heinemann MB, Megid J. Viral type characterization and clinical aspects of canine parvovirus in naturally infected dogs in São Paulo State, Brazil. Pesqui Vet Bras 2016; 36: 1181-5.

Moore GE, Glickman LT. A perspective on vaccine guidelines and titer tests for dogs. J Am Vet Med Assoc 2004; 224: 200-3.

Moore GE, Glickman NW, Ward MP, Engler KS, Lewis HB, Glickman LT. Incidence of and risk factors for adverse events associated with distemper and rabies vaccine administration in ferrets. *J Am Vet Med Assoc* 2005a; 226: 909-12.

Moore GE, Guptill LF, Ward MP, Glickman NW, Faunt KK, Lewis HB, Glickman LT. Adverse events diagnosed within three days of vaccine administration in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2005b; 227: 1102-8.

Moore GE, HogenEsch H. Adverse vaccinal events in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2010; 40: 393-407.

Morag M, Morag A, Reichenberg A, Lerer B, Yirmiya R. Psychological variables as predictors of rubella antibody titers and fatigue—a prospective, double blind study. *J Psychiatr Res* 1999; 33: 389-95.

Morein B, Abusugra I, Blomqvist G. Immunity in neonates. *Vet Immunol Immunopathol* 2002; 87: 207-13.

Morein B, Blomqvist G, Hu K. Immune responsiveness in the neonatal period. *J Comp Pathol* 2007; 137: S27-31.

Mori T, Shin YS, Okita M, Hirayama N, Miyashita N, Gemma T, Kai C, Mikami T. The biological characterization of field isolates of canine distemper virus from Japan. *J Gen Virol* 1994; 75 2403-8.

Morin DE, McCoy GC, Hurley WL. Effects of quality, quantity, and timing of colostrum feeding and addition of a dried colostrum supplement on immunoglobulin G1 absorption in Holstein bull calves. *J Dairy Sci* 1997; 80: 747-53.

Morley P, Mathes M, Guth A, Dow S. Anti-erythrocyte antibodies and disease associations in anemic and nonanemic dogs. *J Vet Intern Med* 2008; 22: 886-92.

Mormede P, Dantzer R, Michaud B, Kelley KW, Le Moal M. Influence of stressor predictability and behavioral control on lymphocyte reactivity, antibody responses and neuroendocrine activation in rats. *Physiol Behav* 1988; 43: 577-83.

Morrison WB, Starr RM. Vaccine-associated feline sarcomas. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 218: 697-702.

Morse JH, Stearns G, Arden J, Agosto GM, Canfield RE. The effects of crude and purified human gonadotropin on in vitro stimulated human lymphocyte cultures. *Cell Immunol* 1976; 25: 178-88.

Mouzin DE, Lorenzen MJ, Haworth JD, King VL. Duration of serologic response to five viral antigens in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2004; 224: 55-60.

Moynihan JA. Mechanisms of stress-induced modulation of immunity. *Brain Behav Immun* 2003; 17: S11-6.

Mucha J, Rybicka A, Dolka I, Szymańska J, Manuali E, Parzeniecka-Jaworska M, Kluciński W, Król M. Immunosuppression in dogs during mammary cancer development. *Vet Pathol* 2016; 53: 1147-53.

Mueller RS, Fieseler KV, Bettenay SV, Rosychuk RA. Influence of long-term treatment with tetracycline and niacinamide on antibody production in dogs with discoid lupus erythematosus. *Am J Vet Res* 2002; 63: 491-4.

Mukhopadhyay HK, Matta SL, Amsaveni S, Antony PX, Thanislass J, Pillai RM. Phylogenetic analysis of canine parvovirus partial VP2 gene in India. *Virus Genes* 2014; 48: 89-95.

Mulvey JJ, Bech-Nielsen S, Haskins ME, Jezyk PF, Taylor HW, Eugster AK. Myocarditis induced by parvoviral infection in weanling pups in the United States. *J Am Vet Med Assoc* 1980; 177: 695-8.

Munday JS, Stedman NL, Richey LJ. Histology and immunohistochemistry of seven ferret vaccination-site fibrosarcomas. *Vet Pathol* 2003; 40: 288-93.

Muneer MA, Farah IO, Newman JA, Goyal SM. Immunosuppression in animals. *Br Vet J* 1988; 144: 288-301.

Murai A, Kitahara K, Okumura S, Kobayashi M, Horio F. Oral antibiotics enhance antibody responses to keyhole limpet hemocyanin in orally but not muscularly immunized chickens. *Anim Sci J* 2016; 87: 257-65.

Murgita RA, Andersson LC, Sherman MS, Bennich H, Wigzell H. Effects of human alpha-foetoprotein on human B and T lymphocyte proliferation in vitro. *Clin Exp Immunol* 1978; 33: 347-56.

Murisier N, Pfister R, Ohder H, Kihm U. Die serologische Immunantwort nach Vakzination mit inaktivierten Parvovirus-Impfstoffen beim Hund. *Schweiz Arch Tierheilkd* 1983; 125: 851-60.

Mustafa MM, Buchanan GR, Winick NJ, McCracken GH, Tkaczewski I, Lipscomb M, Ansari Q, Agopian MS. Immune recovery in children with malignancy after cessation of chemotherapy. *J Pediatr Hematol Oncol* 1998; 20: 451-7.

Nachreiner RF, Refsal KR, Graham PA, Hauptman J, Watson GL. Prevalence of autoantibodies to thyroglobulin in dogs with nonthyroidal illness. *Am J Vet Res* 1998; 59: 951-5.

Nakamura M, Tohya Y, Miyazawa T, Mochizuki M, Phung HT, Nguyen NH, Huynh LM, Nguyen LT, Nguyen PN, Nguyen PV, Nguyen NP, Akashi H. A novel antigenic variant of canine parvovirus from a Vietnamese dog. *Arch Virol* 2004; 149: 2261-9.

Nakayama T, Aizawa C, Kuno-Sakai H. A clinical analysis of gelatin allergy and determination of its causal relationship to the previous administration of gelatin-

containing acellular pertussis vaccine combined with diphtheria and tetanus toxoids. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 321-5.

Nakayama T, Kumagai T. Gelatin allergy (Comment on: Prevalence of anti-gelatin IgE antibodies in people with anaphylaxis after measles-mumps rubella vaccine in the United States. *Pediatrics*. 2002). *Pediatrics* 2004; 113: 170-1.

Nanan R, Heinrich D, Frosch M, Kreth HW. Acute and long-term effects of booster immunisation on frequencies of antigen-specific memory B-lymphocytes. *Vaccine* 2001; 20: 498-504.

Nandi S, Kumar M. Canine parvovirus: Current perspective. *Indian J Virol* 2010; 21: 31-44.

Nandi S, Chidri S, Kumar M, Chauhan RS. Occurrence of canine parvovirus type 2c in the dogs with haemorrhagic enteritis in India. *Res Vet Sci* 2010; 88: 169-71.

Nandi S, Kumar M, Mohapatra TK, Ravishankar C. Emergence of canine parvovirus - 2 variants and its impact on vaccination. *World Appl Sci J* 2013; 23: 1366-76.

Nara PL, Krakowka S, Powers TE. Effects of prednisolone on the development of immune responses to canine distemper virus in Beagle pups. *Am J Vet Res* 1979; 40: 1742-7.

Nara PL, Davis LE, Lauerman LH, Coyle-Dennis JE, Paul J. Effects of chloramphenicol on the development of immune responses to canine distemper virus in Beagle pups. *J Vet Pharmacol Ther* 1982; 5: 177-85.

Nara PL, Winters K, Rice JB, Olsen RG, Krakowka S. Systemic and local intestinal antibody response in dogs given both infective and inactivated canine parvovirus. *Am J Vet Res* 1983; 44: 1989-95.

National Center for Immunization and Respiratory Diseases. General recommendations on immunization: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR Recomm Rep 2011; 60: 1-64.

Neau D, Bonnet F, Michaud M, Perel Y, Longy-Boursier M, Ragnaud JM, Guillard JM. Immune thrombocytopenic purpura after recombinant hepatitis B vaccine: Retrospective study of seven cases. Scand J Infect Dis 1998; 30: 115-8.

Nehlsen-Cannarella SL. Cellular responses to moderate and heavy exercise. Can J Physiol Pharmacol 1998; 76: 485-9.

Nesbitt GH, Izzo J, Peterson L, Wilkins RJ. Canine hypothyroidism: A retrospective study of 108 cases. J Am Vet Med Assoc 1980; 177: 1117-22.

Nieman DC. Exercise immunology: Practical applications. Int J Sports Med 1997; 18: S91-100.

Nieman LK, Biller BM, Findling JW, Murad MH, Newell-Price J, Savage MO, Tabarin A. Treatment of Cushing's Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab 2015; 100: 2807-31.

Nieminen U, Peltola H, Syrjälä MT, Mäkipernaa A, Kekomäki R. Acute thrombocytopenic purpura following measles, mumps and rubella vaccination. A report on 23 patients. Acta Paediatr 1993; 82: 267-70.

Nieto A, Sánchez MA, Martínez E, Rollán E. Immunohistochemical expression of p53, fibroblast growth factor-b, and transforming growth factor-alpha in feline vaccine-associated sarcomas. Vet Pathol 2003; 40: 651-8.

Niewiesk S. Maternal antibodies: Clinical significance, mechanism of interference with immune responses, and possible vaccination strategies. Front Immunol 2014; 5: 446.

Niewiesk S, Oglesbee M. Pathogenesis of viral infections and diseases. In: Fenner's Veterinary Virology, 5th edn. MacLachlan NJ, Dubovi EJ, Barthold SW, Swayne DE, Winton JR, eds. London, United Kingdom: Academic Press, Imprint of Elsevier 2017: 47-78.

Nokleby H. Vaccination and anaphylaxis. *Curr Allergy Asthma Rep* 2006; 6: 9-13.

Nolte I. Erkrankungen des Immunsystems. In: Praktikum der Hundeklinik, 12., aktualisierte edn. Kohn B, Schwarz G, eds. Stuttgart, Deutschland: Enke Verlag 2018: 323-41.

Nookala M, Mukhopadhyay HK, Sivaprakasam A, Balasubramanian B, Antony PX, Thanislass J, Srinivas MV, Pillai RM. Full-length VP2 gene analysis of canine parvovirus reveals emergence of newer variants in India. *Acta Microbiol Immunol Hung* 2016; 63: 411-26.

Norris JM, Krockenberger MB, Baird AA, Knudsen G. Canine distemper: Re-emergence of an old enemy. *Aust Vet J* 2006; 84: 362-3.

Northington JW, Brown MJ. Acute canine idiopathic polyneuropathy. A Guillain-Barré-like syndrome in dogs. *J Neurol Sci* 1982; 56: 259-73.

Ntafis V, Xylouri E, Kalli I, Desario C, Mari V, Decaro N, Buonavoglia C. Characterization of canine parvovirus 2 variants circulating in Greece. *J Vet Diagn Invest* 2010; 22: 737-40.

O'Brien SE, Roth JA, Hill BL. Response of pups to modified-live canine parvovirus component in a combination vaccine. *J Am Vet Med Assoc* 1986; 188: 699-701.

O'Brien SE. Serologic response of pups to the low-passage, modified-live canine parvovirus-2 component in a combination vaccine. *J Am Vet Med Assoc* 1994; 204: 1207-9.



O'Byrne KJ, Dalgleish AG. Chronic immune activation and inflammation as the cause of malignancy. *Br J Cancer* 2001; 85: 473-83.

Ochsenbein AF, Pinschewer DD, Sierro S, Horvath E, Hengartner H, Zinkernagel RM. Protective long-term antibody memory by antigen-driven and T help-dependent differentiation of long-lived memory B cells to short-lived plasma cells independent of secondary lymphoid organs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 13263-8.

Ohmori K, Masuda K, Sakaguchi M, Kaburagi Y, Ohno K, Tsujimoto H. A retrospective study on adverse reactions to canine vaccines in Japan. *J Vet Med Sci* 2002; 64: 851-3.

Ohmori K, Masuda K, Maeda S, Kaburagi Y, Kurata K, Ohno K, Deboer DJ, Tsujimoto H, Sakaguchi M. IgE reactivity to vaccine components in dogs that developed immediate-type allergic reactions after vaccination. *Vet Immunol Immunopathol* 2005a; 104: 249-56.

Ohmori K, Sakaguchi M, Kaburagi Y, Maeda S, Masuda K, Ohno K, Tsujimoto H. Suspected allergic reactions after vaccination in 85 dogs in Japan. *Vet Rec* 2005b; 156: 87-8.

Ohmori K, Masuda K, DeBoer DJ, Sakaguchi M, Tsujimoto H. Immunoblot analysis for IgE-reactive components of fetal calf serum in dogs that developed allergic reactions after non-rabies vaccination. *Vet Immunol Immunopathol* 2007; 115: 166-71.

Ohshima T, Hisaka M, Kawakami K, Kishi M, Tohya Y, Mochizuki M. Chronological analysis of canine parvovirus type 2 isolates in Japan. *J Vet Med Sci* 2008; 70: 769-75.

Oldham RK, Weiner RS, Mathé G, Breard J, Simmler MC, Carde P, Herberman RB. Cell-mediated immune responsiveness of patients with acute lymphocytic leukemia in remission. *Int J Cancer* 1976; 17: 326-37.

Olson P, Klingeborn B, Hedhammar A. Serum antibody response to canine parvovirus, canine adenovirus-1, and canine distemper virus in dogs with known status of immunization: Study of dogs in Sweden. *Am J Vet Res* 1988; 49: 1460-6.

Olson P, Hedhammar A, Klingeborn B. Canine parvovirus infection, canine distemper and infectious canine hepatitis: Inclination to vaccinate and antibody response in the Swedish dog population. *Acta Vet Scand* 1996; 37: 433-43.

Ong HM, Witham A, Kelers K, Boller M. Presumed secondary immune-mediated haemolytic anaemia following elapid snake envenomation and its treatment in four dogs. *Aust Vet J* 2015; 93: 319-26.

Orbach H, Agmon-Levin N, Zandman-Goddard G. Vaccines and autoimmune diseases of the adult. *Discov Med* 2010; 9: 90-7.

Orcutt ES, Lee JA, Bianco D. Immune-mediated hemolytic anemia and severe thrombocytopenia in dogs: 12 cases (2001-2008). *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2010; 20: 338-45.

Orozco MM, Miccio L, Enriquez GF, Iribarren FE, Gürtler RE. Serologic evidence of canine parvovirus in domestic dogs, wild carnivores, and marsupials in the Argentinean Chaco. *J Zoo Wildl Med* 2014; 45: 555-63.

Osterhaus AD, Drost GA, Wirahadiredja RM, van den Ingh TS. Canine viral enteritis: Prevalence of parvo-, corona- and rotavirus infections in dogs in the Netherlands. *Vet Q* 1980a; 2: 181-90.

Osterhaus AD, van Steenis G, de Kreek P. Isolation of a virus closely related to feline panleukopenia virus from dogs with diarrhea. *Zentralbl Veterinarmed B* 1980b; 27: 11-21.

Ottiger HP, Neimeier-Förster M, Stärk KD, Duchow K, Bruckner L. Serological responses of adult dogs to revaccination against distemper, parvovirus and rabies.

Vet Rec 2006; 159: 7-12.

Otto CM, Drobatz KJ, Soter C. Endotoxemia and tumor necrosis factor activity in dogs with naturally occurring parvoviral enteritis. J Vet Intern Med 1997; 11: 65-70.

Otto CM, Jackson CB, Rogell EJ, Prior RB, Ammons WS. Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI21) for treatment of parvovirus enteritis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. J Vet Intern Med 2001; 15: 355-60.

Padgett DA, Glaser R. How stress influences the immune response. Trends Immunol 2003; 24: 444-8.

Pahlavani MA. Does caloric restriction alter IL-2 transcription? Front Biosci 1998; 3: d125-35.

Pahlavani MA. Caloric restriction and immunosenescence: A current perspective. Front Biosci 2000; 5: D580-7.

Pahlavani MA, Vargas DM. Influence of aging and caloric restriction on activation of Ras/MAPK, calcineurin, and CaMK-IV activities in rat T cells. Proc Soc Exp Biol Med 2000; 223: 163-9.

Pahlavani MA. Influence of caloric restriction on aging immune system. J Nutr Health Aging 2004; 8: 38-47.

Palma M, de la Roja N, Montón M, Sastre P, Ramírez S, Barreiro B, Venteo A, Rueda P. Development of a duplex rapid assay for immunoglobulins M and G to evaluate the parvoviral immune status of clinically healthy dogs. J Vet Diagn Invest 2016; 28: 299-303.

Panciera DL. Hypothyroidism in dogs: 66 cases (1987-1992). J Am Vet Med Assoc

1994; 204: 761-7.

Pardo ID, Johnson GC, Kleiboeker SB. Phylogenetic characterization of canine distemper viruses detected in naturally infected dogs in North America. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5009-17.

Pardo MC, Tanner P, Bauman J, Silver K, Fischer L. Immunization of puppies in the presence of maternally derived antibodies against canine distemper virus. *J Comp Pathol* 2007; 137: S72-5.

Parrish CR, Carmichael LE, Antczak DF. Antigenic relationships between canine parvovirus type 2, feline panleukopenia virus and mink enteritis virus using conventional antisera and monoclonal antibodies. *Arch Virol* 1982a; 72: 267-78.

Parrish CR, Oliver RE, McNiven R. Canine parvovirus infections in a colony of dogs. *Vet Microbiol* 1982b; 7: 317-24.

Parrish CR, Aquadro CF, Carmichael LE. Canine host range and a specific epitope map along with variant sequences in the capsid protein gene of canine parvovirus and related feline, mink, and raccoon parvoviruses. *Virology* 1988a; 166: 293-307.

Parrish CR, Burtonboy G, Carmichael LE. Characterization of a nonhemagglutinating mutant of canine parvovirus. *Virology* 1988b; 163: 230-2.

Parrish CR. Mapping specific functions in the capsid structure of canine parvovirus and feline panleukopenia virus using infectious plasmid clones. *Virology* 1991; 183: 195-205.

Parrish CR, Aquadro CF, Strassheim ML, Evermann JF, Sgro JY, Mohammed HO. Rapid antigenic-type replacement and DNA sequence evolution of canine parvovirus. *J Virol* 1991; 65: 6544-52.

Parrish CR, Gruenberg A, Carmichael LE. Attenuated canine parvovirus vaccine.

Internationales Patent WO1996014088A1. Cornell Research Foundation, Inc., Ithaca, N. Y., USA. 1996. Verfügbar unter: <https://patents.google.com/patent/WO1996014088A1> [abgerufen am 28.08.2019].

Parrish CR. Host range relationships and the evolution of canine parvovirus. *Vet Microbiol* 1999; 69: 29-40.

Parrish CR. Parvoviridae. In: Fenner's Veterinary Virology, 5th edn. MacLachlan NJ, Dubovi EJ, Barthold SW, Swayne DE, Winton JR, eds. London, United Kingdom: Academic Press, Imprint of Elsevier 2017: 245-57.

Pastoret PP. Rinderpest: A general introduction. In: Rinderpest and Peste des Petits Ruminants. Virus Plagues of Large and Small Ruminants. Biology of Animal Infections. Barrett T, Pastoret PP, Taylor WP, eds. Oxford, England: Academic Press, Imprint of Elsevier 2006: 1-12.

Pastoret PP, Yamanouchi K, Mueller-Doblies U, Rweyemamu MM, Horzinek MC, Barrett T. Rinderpest — an old and worldwide story: History to c. 1902. In: Rinderpest and Peste des Petits Ruminants. Virus Plagues of Large and Small Ruminants. Biology of Animal Infections. Barrett T, Pastoret PP, Taylor WP, eds. Oxford, England: Academic Press, Imprint of Elsevier 2006: 86-104.

Pastoret PP. Challenges and issues of early life vaccination in animals and humans. *J Comp Pathol* 2007; 137: S2-3.

Patel JR, Heldens JG. Review of companion animal viral diseases and immunoprophylaxis. *Vaccine* 2009; 27: 491-504.

Patel SR, Ortín M, Cohen BJ, Borrow R, Irving D, Sheldon J, Heath PT. Revaccination of children after completion of standard chemotherapy for acute leukemia. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 635-42.

Patja A, Mäkinen-Kiljunen S, Davidkin I, Paunio M, Peltola H. Allergic reactions

to measles-mumps-rubella vaccination. *Pediatrics* 2001; 107: E27.

Patterson EV, Reese MJ, Tucker SJ, Dubovi EJ, Crawford PC, Levy JK. Effect of vaccination on parvovirus antigen testing in kittens. *J Am Vet Med Assoc* 2007; 230: 359-63.

Paul MA, Appel M, Barrett R, Carmichael LE, Childers H, Cotter S, Davidson A, Ford R, Keil D, Lappin M, Schultz RD, Thacker E, Trumpeter JL, Welborn L. Report of the American Animal Hospital Association (AAHA) Canine Vaccine Task Force: executive summary and 2003 canine vaccine guidelines and recommendations. *J Am Anim Hosp Assoc* 2003; 39: 119-31.

Paul MA, Carmichael LE, Childers H, Cotter S, Davidson A, Ford R, Hurley KF, Roth JA, Schultz RD, Thacker E, Welborn L. 2006 AAHA canine vaccine guidelines. *J Am Anim Hosp Assoc* 2006; 42: 80-9.

Paul-Ehrlich-Institut (Bundesinstitut für Impfstoffe und biomedizinische Arzneimittel). Zusammenhang zwischen pandemischer Influenza A/H1N1v-Impfung und Guillain-Barré-Syndrom / Miller-Fisher-Syndrom in Deutschland. 2014. Verfügbar unter: <https://www.pei.de/DE/arzneimittelsicherheit-vigilanz/pharmakovigilanz/forschung/gbs-studie/gbs-guillan-barre-syndrom-studie-node.html> [abgerufen am 01.09.2019].

Paul-Ehrlich-Institut (Bundesinstitut für Impfstoffe und biomedizinische Arzneimittel). Informationen zu Impfstoffen gegen Influenza (Grippe). 2019a. Verfügbar unter: <https://www.pei.de/DE/infos/fachkreise/impfungen-impfstoffe/influenza-grippeimpfstoffe-saisonal/influenza-grippeimpfstoffe-inhalt.html> [abgerufen am 29.07.2019].

Paul-Ehrlich-Institut (Bundesinstitut für Impfstoffe und biomedizinische Arzneimittel). PEI-Liste zugelassener immunologischer Tierarzneimittel für Hunde – Hundeimpfstoffe. 2019b. Verfügbar unter: <https://www.pei.de/DE/arzneimittel/impfstoff-impfstoffe-fuer-tiere/hunde/hunde-alle-table.html> [abgerufen am 11.06.2019].

Pedersen BK, Kappel M, Klokke M, Nielsen HB, Secher NH. The immune system during exposure to extreme physiologic conditions. *Int J Sports Med* 1994; 15: S116-21.

Pedersen NC, Laliberte L, Ekman S. A transient febrile 'limping' syndrome of kittens caused by two different strains of feline calicivirus. *Fel Pract* 1983; 13: 26-35.

Pedersen NC, Elliott JB, Glasgow A, Poland A, Keel K. An isolated epizootic of hemorrhagic-like fever in cats caused by a novel and highly virulent strain of feline calicivirus. *Vet Microbiol* 2000; 73: 281-300.

Pedersen NC, Brucker L, Tessier NG, Liu H, Penedo MC, Hughes S, Oberbauer A, Sacks B. The effect of genetic bottlenecks and inbreeding on the incidence of two major autoimmune diseases in Standard Poodles, sebaceous adenitis and Addison's disease. *Canine Genet Epidemiol* 2015a; 2: 14.

Pedersen NC, Liu H, Leonard A, Griffioen L. A search for genetic diversity among Italian Greyhounds from Continental Europe and the USA and the effect of inbreeding on susceptibility to autoimmune disease. *Canine Genet Epidemiol* 2015b; 2: 17.

Pereira CA, Monezi TA, Mehnert DU, D'Angelo M, Durigon EL. Molecular characterization of canine parvovirus in Brazil by polymerase chain reaction assay. *Vet Microbiol* 2000; 75: 127-33.

Pereira MB, Traverse MC, Barros DM, Bianchini A, Martínez PE. The effects of aging on leukocyte glucocorticoid receptor concentration and response to dexamethasone in dogs. *Exp Gerontol* 2003; 38: 989-95.

Pérez R, Bianchi P, Calleros L, Francia L, Hernández M, Maya L, Panzera Y, Sosa K, Zoller S. Recent spreading of a divergent canine parvovirus type 2a (CPV-2a) strain in a CPV-2c homogenous population. *Vet Microbiol* 2012; 155: 214-9.

Periti P, Mini E. Immunomodulation by cancer chemotherapeutic agents. *Chemioterapia* 1987; 6: 399-402.

Pesavento PA, MacLachlan NJ, Dillard-Telm L, Grant CK, Hurley KF. Pathologic, immunohistochemical, and electron microscopic findings in naturally occurring virulent systemic feline calicivirus infection in cats. *Vet Pathol* 2004; 41: 257-63.

Petermann HG, Chappuis G. Immunprophylaxe der Parvovirusinfektion beim Hund. *Prakt Tierarzt* 1981; 62: 52-8.

Petitionsausschuss des Deutschen Bundestages. Abschlussbegründung des Deutschen Bundestages zur Petition 45925 (Ausschluss von mit Lebendimpfstoffen geimpften

Personen in Betreuungsberufen vom 24.09.2013) vom 05.06.2014. 2014. Verfügbar unter:

[https://epetitionen.bundestag.de/petitionen/\\_2013/\\_09/\\_24/Petition\\_45925.nc.html](https://epetitionen.bundestag.de/petitionen/_2013/_09/_24/Petition_45925.nc.html) [abgerufen am 28. 08.2019].

Petterino C, Modesto P, Strata D, Vascellari M, Mutinelli F, Ferrari A, Ratto A. A case of interscapular fibrosarcoma in a dwarf rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *J Vet Diagn Invest* 2009; 21: 900-5.

Pfeiffer I, Brenig B. Frequency of the canine leucocyte adhesion deficiency (CLAD) mutation among Irish Red Setters in Germany. *J Anim Breed Genet* 2005; 122: 140-2.

Phillips TR, Schultz RD. Failure of vaccine or virulent strains of canine parvovirus to induce immunosuppressive effects on the immune system of the dog. *Viral Immunol* 1987; 1: 135-44.

Phillips TR, Jensen JL, Rubino MJ, Yang WC, Schultz RD. Effects of vaccines on the canine immune system. *Can J Vet Res* 1989; 53: 154-60.



Phromnoi S, Sirinarumitr K, Sirinarumitr T. Sequence analysis of VP2 gene of canine parvovirus isolates in Thailand. *Virus Genes* 2010; 41: 23-9.

Pichlmayr R, Brendel W, Pichlmayr I. Die immunsuppressive Wirkung eines heterologen Antihundelymphocytenserums. *Z Gesamte Exp Med* 1967a; 143: 313-9.

Pichlmayr R, Brendel W, Tidow G. Eigenschaften heterologer Immunseren gegen Hundelymphocyten. *Z Gesamte Exp Med* 1967b; 143: 299-305.

Piek CJ, Junius G, Dekker A, Schrauwen E, Slappendel RJ, Teske E. Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: Treatment outcome and prognostic factors in 149 dogs. *J Vet Intern Med* 2008; 22: 366-73.

Pilecki O, Wysocki M, Styczyński J, Dorau M, Olczak A, Kurylak A, Kurylak D, Halota W, Balcar-Boroń A, Nowaczyk-Michalak A. [Efficacy of passive and active immunization against HBV infection in children with neoplastic diseases]. *Pediatr Pol* 1995; 70: 395-9.

Pineau S, Belbeck LW, Moore S. Levamisole reduces the thrombocytopenia associated with myxovirus vaccination. *Can Vet J* 1980; 21: 82-4.

Pinto LD, Streck AF, Gonçalves KR, Souza CK, Corbellini ÂO, Corbellini LG, Canal CW. Typing of canine parvovirus strains circulating in Brazil between 2008 and 2010. *Virus Res* 2012; 165: 29-33.

Plowden J, Renshaw-Hoelscher M, Engleman C, Katz J, Sambhara S. Innate immunity in aging: Impact on macrophage function. *Aging Cell* 2004; 3: 161-7.

Poffenbarger EM, Olson PN, Chandler ML, Seim HB, Varman M. Use of adult dog serum as a substitute for colostrum in the neonatal dog. *Am J Vet Res* 1991; 52: 1221-4.

Pollock RV, Carmichael LE. Newer knowledge about canine parvovirus. 30th Gaines Veterinary Symposium, Corvallis, Oregon, USA 1981. 36-40.

Pollock RV. Experimental canine parvovirus infection in dogs. *Cornell Vet* 1982; 72: 103-19.

Pollock RV, Carmichael LE. Dog response to inactivated canine parvovirus and feline panleukopenia virus vaccines. *Cornell Vet* 1982a; 72: 16-35.

Pollock RV, Carmichael LE. Maternally derived immunity to canine parvovirus infection: Transfer, decline, and interference with vaccination. *J Am Vet Med Assoc* 1982b; 180: 37-42.

Pollock RV, Carmichael LE. Use of modified live feline panleukopenia virus vaccine to immunize dogs against canine parvovirus. *Am J Vet Res* 1983a; 44: 169-75.

Pollock RV, Carmichael LE. Canine viral enteritis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1983b; 13: 551-66.

Pollock RV, Coyne MJ. Canine parvovirus. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1993; 23: 555-68.

Pool V, Braun MM, Kelso JM, Mootrey G, Chen RT, Yunginger JW, Jacobson RM, Gargiullo PM. Prevalence of anti-gelatin IgE antibodies in people with anaphylaxis after measles-mumps rubella vaccine in the United States. *Pediatrics* 2002; 110: e71.

Pope RM. Immunoregulatory mechanisms present in the maternal circulation during pregnancy. *Baillieres Clin Rheumatol* 1990; 4: 33-52.

Pospischil A, Yamaho H. Die Parvovirusenteritis bei Hunden anhand der Sektionsstatistik 1978-1985. *Tierarztl Prax* 1987; 15: 67-71.

Potgieter LN, Jones JB, Patton CS, Webb-Martin TA. Experimental parvovirus infection in dogs. *Can J Comp Med* 1981; 45: 212-6.

Poulet H. Alternative early life vaccination programs for companion animals. *J Comp Pathol* 2007; 137: S67-71.

Povey C. Development of a vaccine incorporating killed virus of canine origin for the prevention of canine parvovirus infection. *Can Vet J* 1982; 23: 15-21.

Povey RC, Carman PS, Ewert E. The duration of immunity to an inactivated adjuvanted canine parvovirus vaccine. A 52 and 64 week postvaccination challenge study. *Can Vet J* 1983; 24: 245-8.

Povey RC. Distemper vaccination of dogs: Factors which could cause vaccine failure. *Can Vet J* 1986; 27: 321-3.

Povey RC, Carman PS. Introduction, in: Technical basis of vaccination. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997a: 520-1.

Povey RC, Carman PS. Types of vaccines, in: Technical basis of vaccination. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997b: 522-3, Referenzen: 554-64.

Povey RC, Carman PS. Routes of vaccination, in: Technical basis of vaccination. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997c: 525-8, Referenzen: 554-64.

Povey RC, Carman PS. Vaccination schemes, in: Technical basis of vaccination. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997d: 528-34, Referenzen: 554-

64.

Povey RC, Carman PS. Strategies for vaccine use, in: Technical basis of vaccination. In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997e: 534-40, Referenzen: 554-64.

Povey RC, Carman PS. Factors influencing the outcome of vaccination, in: Technical basis of vaccination. In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997f: 540-5, Referenzen: 554-64.

Povey RC, Carman PS. Risks of vaccination, in: Technical basis of vaccination. In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997g: 546-51, Referenzen: 554-64.

Povey RC, Carman PS. Vaccine storage and distribution, in: Technical basis of vaccination. In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997h: 551, Referenzen: 554-64.

Prasad AS. Zinc and immunity. Mol Cell Biochem 1998; 188: 63-9.

Pratelli A, Cavalli A, Normanno G, De Palma MG, Pastorelli G, Martella V, Buonavoglia C. Immunization of pups with maternally derived antibodies to canine parvovirus (CPV) using a modified-live variant (CPV-2b). J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 2000; 47: 273-6.

Pratelli A, Cavalli A, Martella V, Tempesta M, Decaro N, Carmichael LE, Buonavoglia C. Canine parvovirus (CPV) vaccination: Comparison of neutralizing antibody responses in pups after inoculation with CPV2 or CPV2b modified live virus vaccine. Clin Diagn Lab Immunol 2001; 8: 612-5.

Prittie J. Canine parvoviral enteritis: A review of diagnosis, management, and prevention. *J Vet Emerg Crit Care* 2004; 14: 167-76.

Proksch AL, Unterer S, Truyen U, Hartmann K. Efficacy of the paramunity inducer PIND-ORF in the treatment of canine parvovirus infection. *Vet J* 2014; 202: 340-7.

Proksch AL, Hartmann K. Diagnose der kaninen Parvovirus-Infektion. *Tierarztl Prax Ausg K* 2015; 43: 351-7.

Proksch AL, Unterer S, Speck S, Truyen U, Hartmann K. Influence of clinical and laboratory variables on faecal antigen ELISA results in dogs with canine parvovirus infection *Vet J* 2015; 204: 304-8.

Pruett SB. Quantitative aspects of stress-induced immunomodulation. *Int Immunopharmacol* 2001; 1: 507-20.

Puentes R, Eliopulos N, Pérez R, Franco G, Sosa K, Bianchi P, Furtado A, Hübner SO, Esteves PA. Isolation and characterization of canine parvovirus type 2C (CPV-2C) from symptomatic puppies. *Braz J Microbiol* 2012; 43: 1005-9.

Putsche JC, Kohn B. Primary immune-mediated thrombocytopenia in 30 dogs (1997-2003). *J Am Anim Hosp Assoc* 2008; 44: 250-7.

Rajantie J, Zeller B, Treutiger I, Rosthøj S. Vaccination associated thrombocytopenic purpura in children. *Vaccine* 2007; 25: 1838-40.

Rasmussen L, Arvin A. Chemotherapy-induced immunosuppression. *Environ Health Perspect* 1982; 43: 21-5.

Reese MJ, Patterson EV, Tucker SJ, Dubovi EJ, Davis RD, Crawford PC, Levy JK. Effects of anesthesia and surgery on serologic responses to vaccination in kittens. *J Am Vet Med Assoc* 2008; 233: 116-21.

Reimer ME, Troy GC, Warnick LD. Immune-mediated hemolytic anemia: 70 cases (1988-1996). *J Am Anim Hosp Assoc* 1999; 35: 384-91.

Reinhardt D, Houliara K, Pekrun A, Lakomek M, Krone B. Impact of conventional chemotherapy on levels of antibodies against vaccine-preventable diseases in children treated for cancer. *Scand J Infect Dis* 2003; 35: 851-7.

Rewerts JM, McCaw DL, Cohn LA, Wagner-Mann C, Harrington D. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor for treatment of puppies with neutropenia secondary to canine parvovirus infection. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213: 991-2.

Rewerts JM, Cohn LA. CVT update: Diagnosis and treatment of parvovirus. In: *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII: Small Animal Practice*. Bonagura JD, ed. Philadelphia, Pennsylvania, USA: W. B. Saunders Elsevier 2000: 629-32.

Rex A, Hamann M. Antineoplastika. In: *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*, 4., vollständig überarbeitete edn. Löscher W, Richter A, eds. Stuttgart, Deutschland: Enke Verlag in Georg Thieme Verlag KG 2016: 525-46.

Reynolds HY, Johnson JS. Quantitation of canine immunoglobulins. *J Immunol* 1970; 105: 698-703.

Rice JB, Winters KA, Krakowka S, Olsen RG. Comparison of systemic and local immunity in dogs with canine parvovirus gastroenteritis. *Infect Immun* 1982; 38: 1003-9.

Ridgway D, Wolff LJ, Deforest A. Immunization response varies with intensity of acute lymphoblastic leukemia therapy. *Am J Dis Child* 1991; 145: 887-91.

Ridgway D, Wolff LJ. Active immunization of children with leukemia and other malignancies. *Leuk Lymphoma* 1993; 9: 177-92.

Rieder J, Mischke R. Immunsuppressive Therapie bei Hunden und Katzen. Eigenschaften von Wirkstoffen und ihre Anwendung bei verschiedenen immunvermittelten Erkrankungen. Tierarztl Prax Ausg K 2018; 46: 105-18.

Rifé SU, Márquez MG, Escalante A, Velich T. The effect of testosterone on the immune response. 1. Mechanism of action on antibody-forming cells. Immunol Invest 1990; 19: 259-70.

Rikula U, Nuotio L, Sihvonen L. Canine distemper virus neutralising antibodies in vaccinated dogs. Vet Rec 2000; 147: 598-603.

Rikula U, Nuotio L, Sihvonen L. Vaccine coverage, herd immunity and occurrence of canine distemper from 1990-1996 in Finland. Vaccine 2007; 25: 7994-8.

Rikula UK. Canine distemper in Finland – vaccination and epidemiology (academic dissertation). 2008. Verfügbar unter: <https://core.ac.uk/download/pdf/14912175.pdf> [abgerufen am 18.08.2019].

Rimmelzwaan GF, Juntti N, Klingeborn B, Groen J, UytdeHaag FG, Osterhaus AD. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays based on monoclonal antibodies for the serology and antigen detection in canine parvovirus infections. Vet Q 1990; 12: 14-20.

Rimmelzwaan GF, Groen J, Egberink H, Borst GH, UytdeHaag FG, Osterhaus AD. The use of enzyme-linked immunosorbent assay systems for serology and antigen detection in parvovirus, coronavirus and rotavirus infections in dogs in The Netherlands. Vet Microbiol 1991; 26: 25-40.

Rimmelzwaan GF, Osterhaus ADME. The immune response. In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997: 55-67.

Rinkardt NE, Kruth SA, Kaushik A. The effects of prednisone and azathioprine on

circulating immunoglobulin levels and lymphocyte subpopulations in normal dogs. Can J Vet Res 1999; 63: 18-24.

Rivas AL, Tintle L, Meyers-Wallen V, Scarlett JM, van Tassell CP, Quimby FW. Inheritance of renal amyloidosis in Chinese Shar-Pei dogs. J Hered 1993; 84: 438-42.

Robert-Koch-Institut. Ist es ratsam, in der Inkubationsphase einer impfpräventablen Erkrankung zu impfen? 2012. Verfügbar unter: [https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Impfen/AllgFr\\_Kontraindi/FAQ05.html](https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Impfen/AllgFr_Kontraindi/FAQ05.html) [abgerufen am 18.08.2019].

Robert-Koch-Institut. Schutzimpfung gegen Rotaviren: Häufig gestellte Fragen und Antworten. 2013. Verfügbar unter: [https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Impfen/Rota/FAQ-Liste\\_Rotavirus\\_Impfen.html](https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Impfen/Rota/FAQ-Liste_Rotavirus_Impfen.html) [abgerufen am 17.08.2019].

Robert-Koch-Institut. Die Nebenwirkungen und Risiken von Impfungen sind unkalkulierbar. In: Antworten des Robert-Koch-Instituts und des Paul-Ehrlich-Instituts zu den 20 häufigsten Einwänden gegen das Impfen. 2016. Verfügbar unter: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Impfen/Bedeutung/Schutzimpfungen\\_20\\_Einwaende.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Impfen/Bedeutung/Schutzimpfungen_20_Einwaende.html) [abgerufen am 07.09.2019].

Robert-Koch-Institut. Schutzimpfung gegen Masern: Häufig gestellte Fragen und Antworten. 2019a. Verfügbar unter: [https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Impfen/MMR/FAQ-Liste\\_Masern\\_Impfen.html](https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Impfen/MMR/FAQ-Liste_Masern_Impfen.html) [abgerufen am 01.09.2019].

Robert-Koch-Institut. Saisonale Influenzaimpfung: Häufig gestellte Fragen und Antworten. 2019b. Verfügbar unter: [https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Impfen/Influenza/faq\\_ges.html](https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Impfen/Influenza/faq_ges.html) [abgerufen am 01.09.2019].

Roberts ES, VanLare KA, Roycroft LM, King S. Effect of high-dose ciclosporin on



the immune response to primary and booster vaccination in immunocompetent cats. *J Feline Med Surg* 2015; 17: 101-9.

Robertson HD, Polk HC, Jr. The mechanism of infection in patients with diabetes mellitus: A review of leukocyte malfunction. *Surgery* 1974; 75: 123-8.

Robinson WF, Wilcox GE, Flower RL. Canine parvoviral disease: Experimental reproduction of the enteric form with a parvovirus isolated from a case of myocarditis. *Vet Pathol* 1980; 17: 589-99.

Rogger P, Herrmann N, Ottiger HP. Vaccinovigilance: Gemeldete unerwünschte Wirkungen immunologischer Tierarzneimittel im Jahr 2018. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2019; 161: 299-306.

Rogo LD, Mokhtari-Azad T, Kabir MH, Rezaei F. Human parvovirus B19: A review. *Acta Virol* 2014; 58: 199-213.

Romio S, Weibel D, Dieleman JP, Olberg HK, de Vries CS, Sammon C, Andrews N, Svanström H, Mølgaard-Nielsen D, Hviid A, Lapeyre-Mestre M, Sommet A, Saussier C, Castot A, Heijbel H, Arnheim-Dahlström L, Sørensen P, Mosseveld M, Schuemie M, van der Maas N, Jacobs BC, Leino T, Kilpi T, Storsaeter J, Johansen K, Kramarz P, Bonhoeffer J, Sturkenboom MC. Guillain-Barré syndrome and adjuvanted pandemic influenza A (H1N1) 2009 vaccines: A multinational self-controlled case series in Europe. *PLoS One* 2014; 9: e82222.

Rosen HR, Stierer M, Wolf HM, Eibl MM. Impaired primary antibody responses after vaccination against hepatitis B in patients with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1992; 23: 233-40.

Rosenthal RC. Multimodality therapy: Using the best available treatments together rationally. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1996; 26: 1-8.

Roth JA, Eilber FR, Morton DL. Effect of adriamycin and high-dose methotrexate

chemotherapy on in vivo and in vitro cell-mediated immunity in cancer patients. *Cancer* 1978; 41: 814-9.

Roth JA. Cortisol as mediator of stress-associated immunosuppression in cattle. In: *Animal Stress*, 1st edn. Moberg GP, ed. New York, USA: Springer-Verlag 1985: 225-43.

Roth JA. Mechanistic bases for adverse vaccine reactions and vaccine failures, in: *Adverse vaccine reactions, failures, and postmarketing surveillance*. In: *Advances in Veterinary Medicine, Volume 41, Veterinary Vaccines and Diagnostics*. Schultz RD, ed. San Diego, Kalifornien, USA: Academic Press 1999: 681-700.

Roth JA, Spickler AR. Duration of immunity induced by companion animal vaccines. *Anim Health Res Rev* 2010; 11: 165-90.

Roth JA. S11A factors influencing vaccine duration of immunity. 2019. Verfügbar unter:  
[https://www.researchgate.net/publication/238103210\\_S11A\\_Factors\\_Influencing\\_Vaccine\\_Duration\\_of\\_Immunity](https://www.researchgate.net/publication/238103210_S11A_Factors_Influencing_Vaccine_Duration_of_Immunity) [abgerufen am 29.08.2019].

Rouderfer V, Becker NG, Hethcote HW. Waning immunity and its effects on vaccination schedules. *Math Biosci* 1994; 124: 59-82.

Rubin LG, Levin MJ, Ljungman P, Davies EG, Avery R, Tomblyn M, Bousvaros A, Dhanireddy S, Sung L, Keyserling H, Kang I. 2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host. *Clin Infect Dis* 2014; 58: e44-100.

Ruslander D. Medikamente, Dosierungen, Behandlungsprotokolle. In: *Kleintieronkologie. Diagnose und Therapie von Tumorerkrankungen bei Hunden und Katzen*, 2., durchgesehene edn. Kessler M, ed. Stuttgart, Deutschland: Parey in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG 2005: 119-34.

Rytel MW, Dailey MP, Schiffman G, Hoffmann RG, Piering WF. Pneumococcal vaccine immunization of patients with renal impairment. *Proc Soc Exp Biol Med* 1986; 182: 468-73.

Saalmüller A. New understanding of immunological mechanisms. *Vet Microbiol* 2006; 117: 32-8.

Saasa N, Nalubamba KS, M'kandawire E, Siwila J. Seroprevalence of canine parvovirus in dogs in Lusaka District, Zambia. *J Vet Med* 2016; 2016: 9781357.

Sabbioni ME, Castiglione M, Hürny C, Siegrist HP, Bacchi M, Bernhard J, Thürlimann B, Bonnefoi H, Perey L, Goldhirsch A, Senn HJ. Interaction of tamoxifen with concurrent cytotoxic adjuvant treatment affects lymphocytes and lymphocyte subsets counts in breast cancer patients. *Support Care Cancer* 1999; 7: 149-53.

Safra N, Johnson EG, Lit L, Foreman O, Wolf ZT, Aguilar M, Karim N, Finno CJ, Bannasch DL. Clinical manifestations, response to treatment, and clinical outcome for Weimaraners with hypertrophic osteodystrophy: 53 cases (2009-2011). *J Am Vet Med Assoc* 2013; 242: 1260-6.

Sakulwira K, Oraveerakul K, Poovorawan Y. Detection and genotyping of canine parvovirus in enteric dogs by PCR and RFLP. *Sci Asia* 2001; 27: 143-7.

Salemi S, D'Amelio R. Could autoimmunity be induced by vaccination? *Int Rev Immunol* 2010; 29: 247-69.

Salmon DA, Proschan M, Forshee R, Gargiullo P, Bleser W, Burwen DR, Cunningham F, Garman P, Greene SK, Lee GM, Vellozzi C, Yih WK, Gellin B, Lurie N. Association between Guillain-Barré syndrome and influenza A (H1N1) 2009 monovalent inactivated vaccines in the USA: A meta-analysis. *Lancet* 2013; 381: 1461-8.

Samstein RM, Josefowicz SZ, Arvey A, Treuting PM, Rudensky AY. Extrathymic generation of regulatory T cells in placental mammals mitigates maternal-fetal conflict. *Cell* 2012; 150: 29-38.

Santelices Iglesias OA, Wright C, Duchene AG, Risso MA, Risso P, Zanuzzi CN, Nishida F, Lavid A, Confente F, Díaz M, Portiansky EL, Gimeno EJ, Barbeito CG. Association between degree of anaplasia and degree of inflammation with the expression of COX-2 in feline injection site sarcomas. *J Comp Pathol* 2018; 165: 45-51.

Sara E, Kotsakis A, Souklakos J, Kourousis C, Kakolyris S, Mavromanolakis E, Vlachonicolis J, Georgoulis V. Post-chemotherapy lymphopoiesis in patients with solid tumors is characterized by CD4<sup>+</sup> cell proliferation. *Anticancer Res* 1999; 19: 471-6.

Sarpong KJ, Lukowski JM, Knapp CG. Evaluation of mortality rate and predictors of outcome in dogs receiving outpatient treatment for parvoviral enteritis. *J Am Vet Med Assoc* 2017; 251: 1035-41.

Sauvé LJ, Bettinger J, Scheifele D, Halperin S, Vaudry W, Law B. Postvaccination thrombocytopenia in Canada. *Pediatr Infect Dis J* 2010; 29: 559-61.

Savigny MR, Macintire DK. Use of oseltamivir in the treatment of canine parvoviral enteritis. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2010; 20: 132-42.

Schaer M. Immunocompromise in small animal medicine. 33rd Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), Dublin, Irland 2008.

Schäfer T, Bauer CP, Beyer K, Bufe A, Friedrichs F, Gieler U, Gronke G, Hamelmann E, Hellermann M, Kleinheinz A, Klimek L, Koletzko S, Kopp M, Lau S, Müsken H, Reese I, Schmidt S, Schnadt S, Sitter H, Strömer K, Vagts J, Vogelberg C, Wahn U, Werfel T, Worm M, Muche-Borowski C. S3-Guideline on allergy prevention: 2014 update: Guideline of the German Society for Allergology and Clinical Immunology (DGAKI) and the German Society for Pediatric and

Adolescent Medicine (DGKJ). *Allergo J Int* 2014; 23: 186-99.

Schäfer-Somi S, Bär-Schadler S, Aurich JE. Immunoglobulins in nasal secretions of dog puppies from birth to six weeks of age. *Res Vet Sci* 2005; 78: 143-50.

Schattner A. Consequence or coincidence? The occurrence, pathogenesis and significance of autoimmune manifestations after viral vaccines. *Vaccine* 2005; 23: 3876-86.

Schatzberg SJ, Haley NJ, Barr SC, Parrish C, Steingold S, Summers BA, deLahunta A, Kornegay JN, Sharp NJ. Polymerase chain reaction (PCR) amplification of parvoviral DNA from the brains of dogs and cats with cerebellar hypoplasia. *J Vet Intern Med* 2003; 17: 538-44.

Scherk M. Vaccination and the immune status of the cat. 33rd Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), Dublin, Irland 2008. Verfügbar unter:  
<https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11268&meta=generic&id=3866715> [abgerufen am 25.07.2019].

Scherk MA, Ford RB, Gaskell RM, Hartmann K, Hurley KF, Lappin MR, Levy JK, Little SE, Nordone SK, Sparkes AH. 2013 AAEP Feline Vaccination Advisory Panel Report. *J Feline Med Surg* 2013; 15: 785-808.

Schimpf K, Cibelius A, Mardini R. Die physiologischen Inhibitoren der Blutgerinnung bei pathologisch gesteigerter Gerinnbarkeit in vivo. *Klin Wochenschr* 1964; 42: 637-40.

Schlipf M. Lymphozytäre Thyreoiditis und prognostische Rolle der Thyreoglobulin-Autoantikörper bei der Hunderasse Eurasier. 27. Jahrestagung der Fachgruppe "Innere Medizin und klinische Labordiagnostik (InnLab)" der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG), München, Deutschland 2019. Verfügbar unter:  
<https://www.dvg.net/index.php?id=2236&contUId=0#c4580> [abgerufen am

14.09.2019].

Schlüter K. Entwicklung und Versorgung mit innovativen Impfstoffen. 3. Nationale Impfkongferenz, München, Deutschland 2013. 117-20.

Schminkey DL, Groer M. Imitating a stress response: A new hypothesis about the innate immune system's role in pregnancy. *Med Hypotheses* 2014; 82: 721-9.

Schmitz S, Coenen C, König M, Thiel HJ, Neiger R. Comparison of three rapid commercial canine parvovirus antigen detection tests with electron microscopy and polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest* 2009; 21: 344-5.

Schoder D, Benetka V, Sommerfeld-Stur I, Kopf N, Weissenbacher E, Pallan C, Walk K, Möstl K. Untersuchungen zum Antikörper-Status gegen Hundestaupen-Virus und Canines Parvovirus-2 bei Hunden in Niederösterreich und Wien nach unterschiedlichen Impfintervallen. *Wien Tierarztl Monatsschr* 2006; 93: 176-82.

Schorr-Evans EM, Poland A, Johnson WE, Pedersen NC. An epizootic of highly virulent feline calicivirus disease in a hospital setting in New England. *J Feline Med Surg* 2003; 5: 217-26.

Schott H. Medizingeschichte(n): Serumtherapie. *Dtsch Arztebl Int* 2004; 101: 267.

Schrauwen E, Van Ham L. Postvaccinal acute polyradiculoneuritis in a young dog. *Prog Vet Neurol* 1995; 6: 68-70.

Schultz RD. Theory and practice of immunization. In: *Current Veterinary Therapy*. Kirk RW, ed. Philadelphia, USA: W. B. Saunders Co. Ltd. 1980: 1248-55.

Schultz RD. Theory and practice of immunization, in: *Small animal immunology: New faces of immune-mediated diseases and current concepts in vaccine immunology*. San Diego County Spring Veterinary Conference, San Diego, Kalifornien, USA 1995a. 82-99.

Schultz RD. Canine vaccines and immunity: Important considerations in the success of vaccination programmes, in: Small animal immunology: New faces of immune-mediated diseases and current concepts in vaccine immunology. San Diego County Spring Veterinary Conference, San Diego, Kalifornien, USA 1995b. 100-13.

Schultz RD, Larson LJ. The new generation of parvovirus vaccines. A comparison study. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1996; 18: 640-1.

Schultz RD. Current and future canine and feline vaccination programs. *Vet Med* 1998; 93: 233-54.

Schultz RD, Conklin S. The immune system and vaccines. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1998a; 20: 5-18.

Schultz RD, Conklin S. Serologic (antibody) analysis is an excellent indicator for "immunologic memory" following vaccination for any disease and specific indication of protective immunity for certain diseases. The immune system and vaccine challenges for the 21st century. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1998b; 20: S5-18.

Schultz RD. Duration of immunity to canine vaccines: What we know and don't know. Canine Infectious Disease Workshop: From Clinics to Molecular Pathogenesis, James A. Baker Institute, Cornell University, Ithaca, New York., USA 1999. Verfügbar unter: [http://www.ivis.org/proceedings/Baker\\_Can\\_Inf\\_Dis/](http://www.ivis.org/proceedings/Baker_Can_Inf_Dis/) [abgerufen am 28.04.2019].

Schultz RD, Ford RB, Olsen J. Titer testing and vaccination: A new look at traditional practices. *Vet Med* 2002; 97: 1-13.

Schultz RD. Duration of immunity for canine and feline vaccines: A review. *Vet Microbiol* 2006; 117: 75-9.

Schultz RD, Thiel B, Mukhtar E, Sharp P, Larson LJ. Age and long-term protective immunity in dogs and cats. *J Comp Pathol* 2010; 142: S102-8.

Schulz BS, Unterer S, Majzoub M, Eichhorn W, Truyen U, Hartmann K. Outbreak of a virulent calicivirus infection in cats in Germany. 50th Congress of the British Small Animal Veterinary Association (BSAVA), Birmingham, United Kingdom 2007. 494.

Schulz BS, Hartmann K, Unterer S, Eichhorn W, Majzoub M, Homeier-Bachmann T, Truyen U, Ellenberger C, Huebner J. Two outbreaks of virulent systemic feline calicivirus infection in cats in Germany. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2011; 124: 186-93.

Schunck B, Truyen U. Fallbeschreibung: Einfluß maternaler Antikörper auf die Impfung gegen das canine Parvovirus. *Tierarztl Prax* 1995; 23: 185-6.

Schunck B, Kraft W, Truyen U. A simple touch-down polymerase chain reaction for the detection of canine parvovirus and feline panleukopenia virus in feces. *J Virol Methods* 1995; 55: 427-33.

Schuurs AH, Verheul HA. Effects of gender and sex steroids on the immune response. *J Steroid Biochem* 1990; 35: 157-72.

Schwanig M, Löwer J. Herstellung und Prüfung von Impfstoffen. In: *Impfkompendium*, 6., vollständig überarbeitete und erweiterte edn. Spiess H, Heininger U, eds. Stuttgart, Deutschland: Georg Thieme Verlag KG 2005: 24-37.

Schwens A, Pastoret PP, Burtonboy G, Thiry E. Fréquence en Belgique de l'infection à parvovirus chez le chien, avant et après l'observation des premiers cas cliniques. *Ann Med Vet* 1979: 561.

Scott-Moncrieff JC, Azcona-Olivera J, Glickman NW, Glickman LT, HogenEsch H. Evaluation of antithyroglobulin antibodies after routine vaccination in pet and



research dogs. J Am Vet Med Assoc 2002; 221: 515-21.

Scott-Moncrieff JC, Glickman NW, Glickman LT, HogenEsch H. Lack of association between repeated vaccination and thyroiditis in laboratory Beagles. J Vet Intern Med 2006; 20: 818-21.

Segal Y, Shoenfeld Y. Vaccine-induced autoimmunity: The role of molecular mimicry and immune crossreaction. Cell Mol Immunol 2018; 15: 586-94.

Seltsam A, Shukry-Schulz S, Salama A. Vaccination-associated immune hemolytic anemia in two children. Transfusion 2000; 40: 907-9.

Senda M, Hirayama N, Yamamoto H, Kurata K. An improved hemagglutination test for study of canine parvovirus. Vet Microbiol 1986; 12: 1-6.

Senda M, Parrish CR, Harasawa R, Gamoh K, Muramatsu M, Hirayama N, Itoh O. Detection by PCR of wild-type canine parvovirus which contaminates dog vaccines. J Clin Microbiol 1995; 33: 110-3.

Serafini P, Borrello I, Bronte V. Myeloid suppressor cells in cancer: Recruitment, phenotype, properties, and mechanisms of immune suppression. Semin Cancer Biol 2006; 16: 53-65.

Shakespeare AS. The incidence of gastroenteritis diagnosis among sick dogs presented to the Onderstepoort Veterinary Academic Hospital correlated with meteorological data. J S Afr Vet Assoc 1999; 70: 95-7.

Shanfield I, Ladaga LG, Wren SF, Blennerhassett JB, MacLean LD. Prolongation of canine renal allograft survival with antilymphoid antisera. Surg Gynecol Obstet 1968; 127: 29-40.

Sharp NJ, Davis BJ, Guy JS, Cullen JM, Steingold SF, Kornegay JN. Hydranencephaly and cerebellar hypoplasia in two kittens attributed to intrauterine

parvovirus infection. *J Comp Pathol* 1999; 121: 39-53.

Shaw FE, Jr., Guess HA, Roets JM, Mohr FE, Coleman PJ, Mandel EJ, Roehm RR, Jr., Talley WS, Hadler SC. Effect of anatomic injection site, age and smoking on the immune response to hepatitis B vaccination. *Vaccine* 1989; 7: 425-30.

Sheffy BE, Schultz RD. Influence of vitamin E and selenium on immune response mechanisms. *Fed Proc* 1979; 38: 2139-43.

Sheffy BE, Williams AJ. Nutrition and the immune response. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 180: 1073-6.

Sherding RG. Intestinal viruses. In: *Saunders Manual of Small Animal Practice*, 2nd edn. Philadelphia, Pennsylvania, USA: WB Saunders Co. 2000: 110-6.

Shibata Y, Baba M, Kuniyuki M. Studies on the retention of passively transferred antibodies in man. II. Antibody activity in the blood after intravenous or intramuscular administration of anti-HBs human immunoglobulin. *Vox Sang* 1983; 45: 77-82.

Shivachandra SB, Sah RL, Singh SD, Kataria JM, Manimaran K. Immunosuppression in broiler chicks fed aflatoxin and inoculated with fowl adenovirus serotype-4 (FAV-4) associated with hydropericardium syndrome. *Vet Res Commun* 2003; 27: 39-51.

Shoenfeld Y, Aron-Maor A. Vaccination and autoimmunity-'vaccinosis': A dangerous liaison? *J Autoimmun* 2000; 14: 1-10.

Siedek EM, Schmidt H, Sture GH, Raue R. Vaccination with canine parvovirus type 2 (CPV-2) protects against challenge with virulent CPV-2b and CPV-2c. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2011; 124: 58-64.

Siegl G. Canine parvovirus. Origin and significance of a "new" pathogen. In: *The*

Parvoviruses, Reprint of the original 1st ed. 1984 edn. Berns KI, ed. Berlin, Deutschland: Springer 2012: 363-88.

Siegrist CA, Barrios C, Martinez X, Brandt C, Berney M, Córdova M, Kovarik J, Lambert PH. Influence of maternal antibodies on vaccine responses: Inhibition of antibody but not T cell responses allows successful early prime-boost strategies in mice. *Eur J Immunol* 1998; 28: 4138-48.

Siegrist CA. Neonatal and early life vaccinology. *Vaccine* 2001; 19: 3331-46.

Siegrist CA. Mechanisms by which maternal antibodies influence infant vaccine responses: Review of hypotheses and definition of main determinants. *Vaccine* 2003; 21: 3406-12.

Siegrist CA. The challenges of vaccine responses in early life: Selected examples. *J Comp Pathol* 2007a; 137: S4-9.

Siegrist CA. Mechanisms underlying adverse reactions to vaccines. *J Comp Pathol* 2007b; 137: S46-50.

Sikes RK, Peacock GV, Acha P, Arko RJ, Dierks R. Rabies vaccines: Duration-of-immunity study in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1971; 159: 1491-9.

Simberkoff MS, Schiffman G, Katz LA, Spicehandler JR, Moldover NH, Rahal JJ, Jr. Pneumococcal capsular polysaccharide vaccination in adult chronic hemodialysis patients. *J Lab Clin Med* 1980; 96: 363-70.

Singh VK, Tingle AJ, Schulzer M. Rubella-associated arthritis. II. Relationship between circulating immune complex levels and joint manifestations. *Ann Rheum Dis* 1986; 45: 115-9.

Sinnott VB, Otto CM. Use of thromboelastography in dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 39 cases (2000-2008). *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*

2009; 19: 484-8.

Slater EA. The response to measles and distemper virus in immuno-suppressed and normal dogs. J Am Vet Med Assoc 1970; 156: 1762-6.

Slater PE, Ben-Zvi T, Fogel A, Ehrenfeld M, Ever-Hadani S. Absence of an association between rubella vaccination and arthritis in underimmune postpartum women. Vaccine 1995; 13: 1529-32.

Smith CA. Are we vaccinating too much? J Am Vet Med Assoc 1995; 207: 421-5.

Smith GV, Kolff J, Kashiwagi N, Putnam CW, Starzl TE. Modification of established rejection of canine kidney and liver homografts with antilymphocyte gamma-G globulin. Surgery 1969; 66: 546-9.

Smith JR, Farmer TS, Johnson RH. Serological observations on the epidemiology of parvovirus enteritis of dogs. Aust Vet J 1980a; 56: 149-50.

Smith JR, Johnson RH, Farmer TS. Canine parvovirus vaccine. Aust Vet J 1980b; 56: 611-2.

Smith JR, Johnson RH. Observations on the use of an inactivated canine parvovirus vaccine. Vet Rec 1986; 118: 385-7.

Smith-Carr S, Macintire DK, Swango LJ. Canine parvovirus. Part I. Pathogenesis and vaccination. Compend Contin Educ Pract Vet 1997; 19: 125-33.

Somberg RL, Robinson JP, Felsburg PJ. T lymphocyte development and function in dogs with X-linked severe combined immunodeficiency. J Immunol 1994; 153: 4006-15.

Spano D, Zollo M. Tumor microenvironment: A main actor in the metastasis process. Clin Exp Metastasis 2012; 29: 381-95.

Spibey N, Greenwood NM, Sutton D, Chalmers WS, Tarpey I. Canine parvovirus type 2 vaccine protects against virulent challenge with type 2c virus. *Vet Microbiol* 2008; 128: 48-55.

Spiess H, Heininger U. Versagensursachen von Schutzimpfungen. In: *Impfkompendium*, 6., vollständig überarbeitete und erweiterte edn. Spiess H, Heininger U, eds. Stuttgart, Deutschland: Georg Thieme Verlag KG 2005: 119-20.

Srivastav A, Kass PH, McGill LD, Farver TB, Kent MS. Comparative vaccine-specific and other injectable-specific risks of injection-site sarcomas in cats. *J Am Vet Med Assoc* 2012; 241: 595-602.

Stann SE, DiGiacomo RF, Giddens WE, Jr., Evermann JF. Clinical and pathologic features of parvoviral diarrhea in pound-source dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1984; 185: 651-5.

Starzl TE, Marchioro TL, Porter KA, Iwasaki Y, Cerilli GJ. The use of heterologous antilymphoid agents in canine renal and liver homotransplantation and in human renal homotransplantation. *Surg Gynecol Obstet* 1967; 124: 301-8.

Starzl TE. Heterologous antilymphocyte globulin. *N Engl J Med* 1968; 279: 700-3.

Steinel A, Parrish CR, Bloom ME, Truyen U. Parvovirus infections in wild carnivores. *J Wildl Dis* 2001; 37: 594-607.

Stepita ME, Bain MJ, Kass PH. Frequency of CPV infection in vaccinated puppies that attended puppy socialization classes. *J Am Anim Hosp Assoc* 2013; 49: 95-100.

Stiftung Deutsches Historisches Museum Berlin. *Zeitstrahl Chronik 1890*. 2014. Verfügbar unter: <https://www.dhm.de/lemo/jahreschronik/1890> [abgerufen am 30.07.2019].

StIKo Vet am FLI. Stellungnahme zur Impfung nach Antikörperbestimmung bei Hund und Katze. 2017a: 1-9.

StIKo Vet am FLI. Stellungnahme zur Impfung von immunsupprimierten und alten Patienten in der Kleintierpraxis. 2017b: 1-15.

StIKo Vet am FLI. Empfehlungen zur guten Impfpraxis in der Veterinärmedizin. 2018: 1-18.

StIKo Vet am FLI. Leitlinie zur Impfung von Kleintieren, 4. Auflage. 2019: 1-53.

Stimson WH. Studies on the immunosuppressive properties of a pregnancy-associated alpha-macroglobulin. Clin Exp Immunol 1976; 25: 199-206.

Stimson WH. Are pregnancy-associated serum proteins responsible for the inhibition of lymphocyte transformation by pregnancy serum? Clin Exp Immunol 1980; 40: 157-60.

Stoffel MH, Friess AE, Hartmann SH. Ultrastructural evidence of transplacental transport of immunoglobulin G in bitches. J Reprod Fertil 2000; 118: 315-26.

Stokol T, Blue JT, French TW. Idiopathic pure red cell aplasia and nonregenerative immune-mediated anemia in dogs: 43 cases (1988-1999). J Am Vet Med Assoc 2000; 216: 1429-36.

Stone AA, Bovbjerg DH. Stress and humoral immunity: A review of the human studies. Adv Neuroimmunol 1994; 4: 49-56.

Stowe J, Andrews N, Wise L, Miller E. Investigation of the temporal association of Guillain-Barré syndrome with influenza vaccine and influenzalike illness using the United Kingdom General Practice Research Database. Am J Epidemiol 2009; 169: 382-8.

Strasser A, Teltscher A, May B, Sanders C, Niedermüller H. Age-associated changes in the immune system of German Shepherd Dogs. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2000; 47: 181-92.

Strasser A, May B, Teltscher A, Wistrela E, Niedermüller H. Immune modulation following immunization with polyvalent vaccines in dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 2003; 94: 113-21.

Straw B. Decrease in platelet count after vaccination with distemper-hepatitis (DH) vaccine. *Vet Med Small Anim Clin* 1978; 73: 725-6.

Studdert MJ, Oda C, Riegl CA, Roston RP. Aspects of the diagnosis, pathogenesis and epidemiology of canine parvovirus. *Aust Vet J* 1983; 60: 197-200.

Sundburg CR, Belanger JM, Bannasch DL, Famula TR, Oberbauer AM. Gonadectomy effects on the risk of immune disorders in the dog: A retrospective study. *BMC Vet Res* 2016; 12: 278.

Sutter NB, Ostrander EA. Dog star rising: The canine genetic system. *Nat Rev Genet* 2004; 5: 900-10.

Sutton D, Vinberg C, Gustafsson A, Pearce J, Greenwood N. Canine parvovirus type 2c identified from an outbreak of severe gastroenteritis in a litter in Sweden. *Acta Vet Scand* 2013; 55: 64.

Sykes JE. Immunization. In: *Canine and Feline Infectious Diseases*, 1st edn. Sykes JE, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders 2014a: 119-30.

Sykes JE. Canine parvovirus infections and other viral enteritides. In: *Canine and Feline Infectious Diseases*, 1st edn. Sykes JE, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders 2014b: 141-51.

Sykes JE, Papich MG. Antiviral and immunomodulatory drugs. In: *Canine and*

Feline Infectious Diseases, 1st edn. Sykes JE, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders 2014: 54-65.

Sykes JE, Rankin SC. Immunoassays. In: Canine and Feline Infectious Diseases, 1st edn. Sykes JE, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders 2014: 10-6.

Szekeres-Bartho J. Immunological relationship between the mother and the fetus. *Int Rev Immunol* 2002; 21: 471-95.

Taguchi M, Namikawa K, Maruo T, Orito K, Lynch J, Sahara H. Antibody titers for canine parvovirus type-2, canine distemper virus, and canine adenovirus type-1 in adult household dogs. *Can Vet J* 2011; 52: 983-6.

Taguchi M, Namikawa K, Maruo T, Orito K, Lynch J, Tsuchiya R, Sahara H. Booster effect of canine distemper, canine parvovirus infection and infectious canine hepatitis combination vaccine in domesticated adult dogs. *Microbiol Immunol* 2012a; 56: 579-82.

Taguchi M, Namikawa K, Maruo T, Saito M, Lynch J, Sahara H. Effects of body weight on antibody titers against canine parvovirus type 2, canine distemper virus, and canine adenovirus type 1 in vaccinated domestic adult dogs. *Can J Vet Res* 2012b; 76: 317-9.

Tanriverdi F, Silveira LF, MacColl GS, Bouloux PM. The hypothalamic-pituitary-gonadal axis: Immune function and autoimmunity. *J Endocrinol* 2003; 176: 293-304.

Tarpey I, Greenwood N. Canine parvovirus DNA vaccination. United States Patent US6187759B1. Akzo Nobel N. V., Arnhem, Niederlande. 2001. Verfügbar unter: <https://patents.google.com/patent/US6187759B1> [abgerufen am 28.08.2019].

Tater KC, Jackson HA, Paps J, Hammerberg B. Effects of routine prophylactic vaccination or administration of aluminum adjuvant alone on allergen-specific



serum IgE and IgG responses in allergic dogs. *Am J Vet Res* 2005; 66: 1572-7.

Tavadia S, Drummond A, Evans CD, Wainwright NJ. Leucocytoclastic vasculitis and influenza vaccination. *Clin Exp Dermatol* 2003; 28: 154-6.

Tellier LA. Immune-mediated vasculitis in a Shar-Pei with swollen hock syndrome. *Can Vet J* 2001; 42: 137-9.

Ten Berge RJ, Schellekens PT, Hamerlynck JV, Bruning PF. Combination chemotherapy and immune capacity in advanced ovarian carcinoma. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1984; 20: 91-8.

Tengerdy RP, Heinzerling RH, Nockels CF. Effect of vitamin E on the immune response of hypoxic and normal chickens. *Infect Immun* 1972; 5: 987-9.

Tennant BJ, Gaskell RM, Jones RC, Gaskell CJ. Prevalence of antibodies to four major canine viral diseases in dogs in a Liverpool hospital population. *J Small Anim Pract* 1991; 32: 175-9.

Terpstra C, Kroese AH. Potency control of modified live viral vaccines for veterinary use. *Vaccine* 1996; 14: 570-5.

Thacker EL, Refsal KR, Bull RW. Prevalence of autoantibodies to thyroglobulin, thyroxine, or triiodothyronine and relationship of autoantibodies and serum concentrations of iodothyronines in dogs. *Am J Vet Res* 1992; 53: 449-53.

Thacker EL, Davis JM, Refsal KR, Bull RW. Isolation of thyroid peroxidase and lack of autoantibodies to the enzyme in dogs with autoimmune thyroid disease. *Am J Vet Res* 1995; 56: 34-8.

The European Pharmacopoeia Commission (Council of Europe). European Pharmacopoeia (Ph. Eur.), 10th edn. 2019. Verfügbar unter: [https://www.edqm.eu/en/european\\_pharmacopoeia\\_10th\\_edition](https://www.edqm.eu/en/european_pharmacopoeia_10th_edition) [abgerufen am

28. 08.2019].

Thiede A, Zimmermann HJ. Idiopathische Polyneuritis – Guillain-Barré-Syndrom durch Tetanusimpfung? Zentralbl Chir 2015; 140: 572-5.

Thigpen JE, Faith RE, McConnell EE, Moore JA. Increased susceptibility to bacterial infection as a sequela of exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Infect Immun 1975; 12: 1319-24.

Thiry E, Horzinek MC. Vaccination guidelines: A bridge between official requirements and the daily use of vaccines. Rev Sci Tech 2007; 26: 511-7.

Thomas ED, Baker JA, Ferrebee JW. The effect of methotrexate on the production of antibodies against attenuated distemper virus in the dog. J Immunol 1963; 90: 324-8.

Thomas J, Singh M, Goswami TK, Glora P, Chakravarti S, Chander V, Upmanyu V, Verma S, Sharma C, Mahendran K. Determination of immune status in dogs against CPV-2 by recombinant protein based latex agglutination test. Biologicals 2017; 49: 51-6.

Thompson H, Macartney L, McCandlish IA, Cornwell HJ. Measurement of antibodies after parvovirus vaccination. Vet Rec 1985; 117: 255.

Thompson H, McCandlish IA, Cornwell HJ, Macartney L, Maxwell NS, Weipers AF, Wills IR, Black JA, Mackenzie AC. Studies of parvovirus vaccination in the dog: The performance of live attenuated feline parvovirus vaccines. Vet Rec 1988; 122: 378-85.

Thompson H. Efficacy of vaccination against canine parvovirus. Vet Rec 2006; 159: 570-1.

Thomssen R. Live attenuated versus killed virus vaccines. Monogr Allergy 1975;

9: 155-76.

Thornton AM. Regulatory T cells, in: Immune system toxicology. In: Comprehensive Toxicology, 2nd edn. McQueen CA, ed. Oxford, England: Elsevier 2010: 87-107.

Thornton DH. A survey of mycoplasma detection in vaccines. *Vaccine* 1986; 4: 237-40.

Tingle AJ, Allen M, Petty RE, Kettyls GD, Chantler JK. Rubella-associated arthritis. I. Comparative study of joint manifestations associated with natural rubella infection and RA 27/3 rubella immunisation. *Ann Rheum Dis* 1986; 45: 110-4.

Tingle AJ, Mitchell LA, Grace M, Middleton P, Mathias R, MacWilliam L, Chalmers A. Randomised double-blind placebo-controlled study on adverse effects of rubella immunisation in seronegative women. *Lancet* 1997; 349: 1277-81.

Tishler M, Levy O, Amit-Vazina M. Immune thrombocytopenic purpura following influenza vaccination. *Isr Med Assoc J* 2006; 8: 322-3.

Tizard I. Risks associated with use of live vaccines. *J Am Vet Med Assoc* 1990; 196: 1851-8.

Tizard I, Ni Y. Use of serologic testing to assess immune status of companion animals. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213: 54-60.

Tizard IR. Dendritic cells and antigen processing. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018a: 89-99.

Tizard IR. The major histocompatibility complex. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018b: 100-7.

Tizard IR. B cells and their response to antigens. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018c: 147-61.

Tizard IR. Antibodies: Soluble antigen receptors. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018d: 162-72.

Tizard IR. Regulation of adaptive immunity. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018e: 207-20.

Tizard IR. The microbiota and the immune system. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018f: 221-33.

Tizard IR. Immunity in the fetus and newborn. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018g: 247-60.

Tizard IR. Vaccines and their production. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018h: 261-73.

Tizard IR. The use of vaccines. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018i: 274-84.

Tizard IR. Immunity to viruses. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018j: 297-309.

Tizard IR. Allergic diseases. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018k: 335-47.

Tizard IR. Immune complexes and neutrophil-mediated hypersensitivity. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018l: 357-66.

Tizard IR. Organ graft rejection and pregnancy. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018m: 377-87.

Tizard IR. Cancer immunology and immunotherapy. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018n: 388-400.

Tizard IR. Autoimmunity: General principles. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018o: 401-8.

Tizard IR. Organ-specific autoimmune diseases. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018p: 409-22.

Tizard IR. Immune-mediated inflammatory disease. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018q: 423-34.

Tizard IR. Drugs and other agents that affect the immune system. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018r: 463-70.

Tizard IR. Immunodiagnostic techniques. In: *Veterinary Immunology*, 10th edn. Tizard IR, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Inc. 2018s: 471-89.

Tjälve H. Adverse reactions to veterinary drugs reported in Sweden during 1991-1995. *J Vet Pharmacol Ther* 1997; 20: 105-10.

Tjälve H. Biverkningar vid vaccinationer av mellanpinschlar. *Svensk veterinärtidning* 2006; 58: 19-20.

Tokars JJ, Lewis P, DeStefano F, Wise M, Viray M, Morgan O, Gargiullo P, Vellozzi C. The risk of Guillain-Barré syndrome associated with influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccine and 2009-2010 seasonal influenza vaccines: Results from self-controlled analyses. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2012; 21: 546-52.

Toman M, Faldyna M, Knotigova P, Pokorova D, Sinkora J. Postnatal development of leukocyte subset composition and activity in dogs. *Vet Immunol Immunopathol*

2002; 87: 321-6.

Tomer Y. Anti-thyroglobulin autoantibodies in autoimmune thyroid diseases: Cross-reactive or pathogenic? *Clin Immunol Immunopathol* 1997; 82: 3-11.

Touihri L, Bouzid I, Daoud R, Desario C, El Goulli AF, Decaro N, Ghorbel A, Buonavoglia C, Bahloul C. Molecular characterization of canine parvovirus-2 variants circulating in Tunisia. *Virus Genes* 2009; 38: 249-58.

Toussiot É, Bereau M. Vaccination and induction of autoimmune diseases. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2015; 14: 94-8.

Tratschin JD, McMaster GK, Kronauer G, Siegl G. Canine parvovirus: Relationship to wild-type and vaccine strains of feline panleukopenia virus and mink enteritis virus. *J Gen Virol* 1982; 61: 33-41.

Trujillo-Vargas CM, Mayer KD, Bickert T, Palmethofer A, Grunewald S, Ramirez-Pineda JR, Polte T, Hansen G, Wohlleben G, Erb KJ. Vaccinations with T-helper type 1 directing adjuvants have different suppressive effects on the development of allergen-induced T-helper type 2 responses. *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 1003-13.

Truyen U. Canines Parvovirus: Neuere Erkenntnisse über die Entstehung und Entwicklung eines viralen Pathogens. *Tierarztl Prax* 1994; 22: 579-84.

Truyen U, Geissler K, Parrish CR, Hermanns W, Siegl G. No evidence for a role of modified live virus vaccines in the emergence of canine parvovirus. *J Gen Virol* 1998; 79: 1153-8.

Truyen U. Emergence and recent evolution of canine parvovirus. *Vet Microbiol* 1999; 69: 47-50.

Truyen U. Canine parvovirus. 2000. Verfügbar unter:

[http://www.ivis.org/advances/Infect\\_Dis\\_Carmichael/truyen/chapter\\_frm.asp](http://www.ivis.org/advances/Infect_Dis_Carmichael/truyen/chapter_frm.asp)  
[abgerufen am 02.06.2019].

Truyen U, Steinel A, Bruckner L, Lutz H, Möstl K. Die Verteilung der antigenen Typen des caninen Parvovirus in der Schweiz, Österreich und Deutschland. Schweiz Arch Tierheilkd 2000; 142: 115-9.

Truyen U. Evolution of canine parvovirus—a need for new vaccines? Vet Microbiol 2006; 117: 9-13.

Truyen U, Parrish CR. Feline panleukopenia virus: Its interesting evolution and current problems in immunoprophylaxis against a serious pathogen. Vet Microbiol 2013; 165: 29-32.

Tsavaris N, Kosmas C, Vadiaka M, Kanelopoulos P, Boulamatsis D. Immune changes in patients with advanced breast cancer undergoing chemotherapy with taxanes. Br J Cancer 2002; 87: 21-7.

Tucciarone CM, Franzo G, Mazzetto E, Legnardi M, Caldin M, Furlanello T, Cecchinato M, Drigo M. Molecular insight into Italian canine parvovirus heterogeneity and comparison with the worldwide scenario. Infect Genet Evol 2018; 66: 171-9.

Turner PJ, Southern J, Andrews NJ, Miller E, Erlewyn-Lajeunesse M. Safety of live attenuated influenza vaccine in young people with egg allergy: Multicentre prospective cohort study. BMJ 2015; 351: h6291.

Twark L, Dodds WJ. Clinical use of serum parvovirus and distemper virus antibody titers for determining revaccination strategies in healthy dogs. J Am Vet Med Assoc 2000; 217: 1021-4.

Utsuyama M, Hirokawa K, Kurashima C, Fukayama M, Inamatsu T, Suzuki K, Hashimoto W, Sato K. Differential age-change in the numbers of CD4+CD45RA+

and CD4+CD29+ T cell subsets in human peripheral blood. *Mech Ageing Dev* 1992; 63: 57-68.

Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force. Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force guidelines. Diagnosis and treatment of suspected sarcomas. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 214: 1745.

Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force. The current understanding and management of vaccine-associated sarcomas in cats. *J Am Vet Med Assoc* 2005; 226: 1821-42.

Valli JL. Suspected adverse reactions to vaccination in Canadian dogs and cats. *Can Vet J* 2015; 56: 1090-2.

Van der Meché FG, Van Doorn PA, Meulstee J, Jennekens FG. Diagnostic and classification criteria for the Guillain-Barré syndrome. *Eur Neurol* 2001; 45: 133-9.

Van Kampen KR. Recombinant vaccine technology in veterinary medicine. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2001; 31: 535-8.

Van Nguyen S, Umeda K, Yokoyama H, Tohya Y, Kodama Y. Passive protection of dogs against clinical disease due to canine parvovirus-2 by specific antibody from chicken egg yolk. *Can J Vet Res* 2006; 70: 62-4.

Van Oirschot JT. Classical inactivated vaccines, in: Categories of products (mechanism of action, advantages/disadvantages). In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997a: 258-60, Referenzen: 278-84.

Van Oirschot JT. Classical attenuated vaccines, in: Categories of products (mechanism of action, advantages/disadvantages). In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande:



Elsevier Science B. V. 1997b: 260-2, Referenzen: 278-84.

Van Oirschot JT. Marker vaccines (deleted or not, criteria for the choice of deletion, associated diagnostic reagents), in: Categories of products (mechanism of action, advantages/disadvantages). In: Veterinary Vaccinology. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier Science B. V. 1997c: 267-8, Referenzen: 278-84.

Vascellari M, Melchiotti E, Bozza MA, Mutinelli F. Fibrosarcomas at presumed sites of injection in dogs: Characteristics and comparison with non-vaccination site fibrosarcomas and feline post-vaccinal fibrosarcomas. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2003; 50: 286-91.

Vedhara K, Cox NK, Wilcock GK, Perks P, Hunt M, Anderson S, Lightman SL, Shanks NM. Chronic stress in elderly carers of dementia patients and antibody response to influenza vaccination. *Lancet* 1999; 353: 627-31.

Veir JK, Knorr R, Cavadini C, Sherrill SJ, Benyacoub J, Satyaraj E, Lappin MR. Effect of supplementation with *Enterococcus faecium* (SF68) on immune functions in cats. *Vet Ther* 2007; 8: 229-38.

Veir JK, Duffy AL, Dow SW, Lappin MR. Comparison of quantitative PCR and conventional endpoint PCR for amplification of parvovirus DNA in blood from naturally infected and recently vaccinated dogs. 2009 ACVIM Forum & Canadian Veterinary Medical Association Convention, Montréal, Québec, Kanada 2009. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 769.

Vella C, Ketteridge SW. Origins of canine parvovirus. In: Canine Parvovirus: A New Pathogen, 1st edn. Vella C, Ketteridge SW, eds. Berlin/Heidelberg, Deutschland: Springer-Verlag 1991: 25-39.

Verthelyi D, Klinman DM. Sex hormone levels correlate with the activity of cytokine-secreting cells in vivo. *Immunology* 2000; 100: 384-90.

Vidor E. Vaccination of newborns against hepatitis A in the presence of maternally derived antibodies. *J Comp Pathol* 2007a; 137: S42-5.

Vidor E. The nature and consequences of intra- and inter-vaccine interference. *J Comp Pathol* 2007b; 137: S62-6.

Vila Nova B, Cunha E, Sepúlveda N, Oliveira M, São Braz B, Tavares L, Almeida V, Gil SA. Evaluation of the humoral immune response induced by vaccination for canine distemper and parvovirus: A pilot study. *BMC Vet Res* 2018; 14: 348.

Vitale CB, Gross TL, Magro CM. Vaccine-induced ischemic dermatopathy in the dog. *Vet Dermatol* 1999; 10: 131-42.

Vitour D, Guillotin J, Sailleau C, Viarouge C, Desprat A, Wolff F, Belbis G, Durand B, Bakkali-Kassimi L, Breard E, Zientara S, Zanella G. Colostral antibody induced interference of inactivated bluetongue serotype-8 vaccines in calves. *Vet Res* 2011; 42: 18.

Vogel FR, Powell MF. A compendium of vaccine adjuvants and excipients. In: *Vaccine Design. The Subunit and Adjuvant Approach*, 1st edn. Powell MF, Newman MJ, eds. New York, USA: Plenum Press 1995: 141-228.

Von Reitzenstein M, Ludlow D, Marcos S, Kopta L, Sandbulte J, Mischnick C, Slade D, Hawkins KF, King V, Inskeep G, Sture G. Cross protection of vanguard 5L4-CV vaccine against virulent canine parvovirus-2c circulating in the USA. *Int J Appl Res Vet Med* 2012; 10: 187-97.

Voorwerk L, Slagter M, Horlings HM, Sikorska K, van de Vijver KK, de Maaker M, Nederlof I, Kluin RJC, Warren S, Ong S, Wiersma TG, Russell NS, Lalezari F, Schouten PC, Bakker NAM, Ketelaars SLC, Peters D, Lange CAH, van Werkhoven E, van Tinteren H, Mandjes IAM, Kemper I, Onderwater S, Chalabi M, Wilgenhof S, Haanen JBAG, Salgado R, de Visser KE, Sonke GS, Wessels LFA, Linn SC, Schumacher TN, Blank CU, Kok M. Immune induction strategies in metastatic triple-negative breast cancer to enhance the sensitivity to PD-1 blockade: The

TONIC trial. *Nat Med* 2019; 25: 920-8.

Vucic S, Kiernan MC, Cornblath DR. Guillain-Barré syndrome: An update. *J Clin Neurosci* 2009; 16: 733-41.

Waern MJ, Fossum C. Effects of acute physical stress on immune competence in pigs. *Am J Vet Res* 1993; 54: 596-601.

Walker ST, Feilen CP, Sabine M, Love DN, Jones RF. A serological survey of canine parvovirus infection in New South Wales, Australia. *Vet Rec* 1980; 106: 324-5.

Wallace BL, McMillen JK. An inactivated canine parvovirus vaccine: Duration of immunity and effectiveness in presence of maternal antibody. *Canine Pract* 1985; 12: 14-9.

Walter CU, Biller BJ, Lana SE, Bachand AM, Dow SW. Effects of chemotherapy on immune responses in dogs with cancer. *J Vet Intern Med* 2006; 20: 342-7.

Wander RC, Hall JA, Gradin JL, Du SH, Jewell DE. The ratio of dietary (n-6) to (n-3) fatty acids influences immune system function, eicosanoid metabolism, lipid peroxidation and vitamin E status in aged dogs. *J Nutr* 1997; 127: 1198-205.

Waner T, Naveh A, Wudovsky I, Carmichael LE. Assessment of maternal antibody decay and response to canine parvovirus vaccination using a clinic-based enzyme-linked immunosorbent assay. *J Vet Diagn Invest* 1996; 8: 427-32.

Waner T. Response of puppies to vaccination with canine distemper and canine parvovirus. 27th Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), Granada, Spanien 2002. Verfügbar unter: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11147&id=3846230> [abgerufen am 25.07.2019].

Waner T, Mazar S, Nachmias E, Keren-Kornblatt E, Harrus S. Evaluation of a dot ELISA kit for measuring immunoglobulin M antibodies to canine parvovirus and distemper virus. *Vet Rec* 2003; 152: 588-91.

Waner T, Mazar S, Keren-Kornblatt E. Application of a dot enzyme-linked immunosorbent assay for evaluation of the immune status to canine parvovirus and distemper virus in adult dogs before revaccination. *J Vet Diagn Invest* 2006; 18: 267-70.

Wang J, Lin P, Zhao H, Cheng Y, Jiang Z, Zhu H, Wu H, Cheng S. Continuing evolution of canine parvovirus in China: Isolation of novel variants with an Ala5Gly mutation in the VP2 protein. *Infect Genet Evol* 2016; 38: 73-8.

Warman SM, Helps CR, Barker EN, Day S, Sturgess K, Day MJ, Tasker S. Haemoplasma infection is not a common cause of canine immune-mediated haemolytic anaemia in the UK. *J Small Anim Pract* 2010; 51: 534-9.

Watabe A, Fukumoto S, Komatsu T, Endo Y, Kadosawa T. Alterations of lymphocyte subpopulations in healthy dogs with aging and in dogs with cancer. *Vet Immunol Immunopathol* 2011; 142: 189-200.

Webster AC. The adverse effect of environment on the response to distemper vaccination. *Aust Vet J* 1975; 51: 488-90.

Webster JI, Tonelli L, Sternberg EM. Neuroendocrine regulation of immunity. *Annu Rev Immunol* 2002; 20: 125-63.

Weibel RE, Benor DE. Chronic arthropathy and musculoskeletal symptoms associated with rubella vaccines. A review of 124 claims submitted to the national vaccine injury compensation program. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1529-34.

Weiden PL, Storb R, Kolb HJ, Ochs HD, Graham TC, Tsoi MS, Schroeder ML, Thomas ED. Immune reactivity in dogs with spontaneous malignancy. *J Natl*

Cancer Inst 1974; 53: 1049-56.

Weigent DA, Blalock JE. Production of peptide hormones and neurotransmitters by the immune system. *Chem Immunol* 1997; 69: 1-30.

Weinkle TK, Center SA, Randolph JF, Warner KL, Barr SC, Erb HN. Evaluation of prognostic factors, survival rates, and treatment protocols for immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 151 cases (1993-2002). *J Am Vet Med Assoc* 2005; 226: 1869-80.

Weiss DJ, Brazzell JL. Detection of activated platelets in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *J Vet Intern Med* 2006; 20: 682-6.

Welborn LV, DeVries JG, Ford R, Franklin RT, Hurley KF, McClure KD, Paul MA, Schultz RD. 2011 AAHA Canine Vaccination Guidelines. *J Am Anim Hosp Assoc* 2011; 47: 1-42.

Wellemans G, Van Opdenbosch E. Mise en évidence du virus BVD (bovine viral diarrhoea virus) dans plusieurs lignées cellulaires. *Ann Rech Vet* 1987; 18: 99-102.

Wensvoort G, Terpstra C. Bovine viral diarrhoea virus infections in piglets born to sows vaccinated against swine fever with contaminated vaccine. *Res Vet Sci* 1988; 45: 143-8.

Wheeler TT, Hodgkinson AJ, Prosser CG, Davis SR. Immune components of colostrum and milk—a historical perspective. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2007; 12: 237-47.

Whetstone CA, Bunn TO, Emmons RW, Wiktor TJ. Use of monoclonal antibodies to confirm vaccine-induced rabies in ten dogs, two cats, and one fox. *J Am Vet Med Assoc* 1984; 185: 285-8.

White ME, Hathaway MR, Dayton WR, Lepine AJ. The role of growth factors in

canine and feline milk. 1996. Verfügbar unter: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9620653> [abgerufen am 07.08.2019].

Whittemore JC, Hawley JR, Jensen WA, Lappin MR. Antibodies against Crandell Rees feline kidney (CRFK) cell line antigens, alpha-enolase, and annexin A2 in vaccinated and CRFK hyperinoculated cats. *J Vet Intern Med* 2010; 24: 306-13.

Wichmann O. Bewertung von Impfdurchbrüchen und Konsequenzen. 3. Nationale Impfkonzferenz, München, Deutschland 2013. 121-6.

Wierup M, Hôk K, Klingborn B, Rivera E, Morein B, Karlsson KA, Hedhammar Å, Ekman L, Olson P. Svenskt vaccin utprovat som skydd mot parvovirusinfektion hos hund. *Svensk Veterinärtidning* 1980; 32: 195-200.

Wierup M, Olson P, Hedhammar Å, Klingeborn B, Karlsson KA. Evaluation of a killed feline panleukopenia virus vaccine against canine parvoviral enteritis in dogs. *Am J Vet Res* 1982; 43: 2183-7.

Wilbur LA, Evermann JF, Levings RL, Stoll IR, Starling DE, Spillers CA, Gustafson GA, McKeirnan AJ. Abortion and death in pregnant bitches associated with a canine vaccine contaminated with bluetongue virus. *J Am Vet Med Assoc* 1994; 204: 1762-5.

Wilcock BP, Yager JA. Focal cutaneous vasculitis and alopecia at sites of rabies vaccination in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1986; 188: 1174-7.

Wilcoxon SC, Kirkman E, Dowdell KC, Stohlman SA. Gender-dependent IL-12 secretion by APC is regulated by IL-10. *J Immunol* 2000; 164: 6237-43.

Wilhelm S, Löwenstein M, Truyen U. Untersuchung eines Schnelltests zur Bestimmung von Parvovirusantikörpern in der Kleintierpraxis. *Prakt Tierarzt* 2005; 86: 710-7.

Wilson S, Stirling C, Borowski S, Thomas A, King V, Salt J. Vaccination of dogs with Duramune DAPPi+LC protects against pathogenic canine parvovirus type 2c challenge. *Vet Rec* 2013; 172: 662.

Wilson S, Illambas J, Siedek E, Stirling C, Thomas A, Plevová E, Sture G, Salt J. Vaccination of dogs with canine parvovirus type 2b (CPV-2b) induces neutralising antibody responses to CPV-2a and CPV-2c. *Vaccine* 2014a; 32: 5420-4.

Wilson S, Illambas J, Siedek E, Thomas A, King V, Stirling C, Plevová E, Salt J, Sture G. The administration of a single dose of a multivalent (DHPPiL4R) vaccine prevents clinical signs and mortality following virulent challenge with canine distemper virus, canine adenovirus or canine parvovirus. *Trials Vaccinol* 2014b; 3: 102–6.

Wilson S, Siedek E, Thomas A, King V, Stirling C, Plevová E, Salt J, Sture G. Influence of maternally-derived antibodies in 6-week old dogs for the efficacy of a new vaccine to protect dogs against virulent challenge with canine distemper virus, adenovirus or parvovirus. *Trials Vaccinol* 2014c; 3: 107–13.

Wing JB, Sakaguchi S. Regulatory immune cells, in: Part two: Host defense mechanisms and inflammation. In: *Clinical Immunology: Principles and Practice*, 5th edn. Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Schroeder HW, Frew AJ, Weyand CM, eds. London, United Kingdom: Elsevier 2018: 261-71.

Winters WD. Time dependent decreases of maternal canine virus antibodies in newborn pups. *Vet Rec* 1981; 108: 295-9.

Wong CW, Smith SE, Thong YH, Opdebeeck JP, Thornton JR. Effects of exercise stress on various immune functions in horses. *Am J Vet Res* 1992; 53: 1414-7.

Wood JLN, Adams VJ. Epidemiological approaches to safety investigations. *Vet Microbiol* 2006; 117: 66-70.

Woods CB, Pollock RVH, Carmichael LE. Canine parvoviral enteritis. *J Am Anim Hosp Assoc* 1980; 16: 171-9.

Woodward KN. Origins of injection-site sarcomas in cats: The possible role of chronic inflammation—a review. *ISRN Vet Sci* 2011; 2011: 210982.

Woolford L, Crocker P, Bobrowski H, Baker T, Hemmatzadeh F. Detection of the canine parvovirus 2c subtype in Australian dogs. *Viral Immunol* 2017; 30: 371-6.

Wraith DC, Goldman M, Lambert PH. Vaccination and autoimmune disease: What is the evidence? *Lancet* 2003; 362: 1659-66.

Wright NG. Canine adenovirus: Its role in renal and ocular disease: A review. *J Small Anim Pract* 1976; 17: 25-33.

Xu J, Guo HC, Wei YQ, Shu L, Wang J, Li JS, Cao SZ, Sun SQ. Phylogenetic analysis of canine parvovirus isolates from Sichuan and Gansu provinces of China in 2011. *Transbound Emerg Dis* 2015; 62: 91-5.

Yachnin S, Lester E. Inhibition of human lymphocyte transformation by human alpha-foetoprotein (HAFP); comparison of foetal and hepatoma HAFP and kinetic studies in vitro immunosuppression. *Clin Exp Immunol* 1976; 26: 484-90.

Yang DK, Yoon SS, Byun JW, Lee KW, Oh YI, Song JY. Serological survey for canine parvovirus type 2a (CPV2a) in the stray dogs in South Korea. *J Bacteriol Virol* 2010; 40: 77-81.

Yi L, Tong M, Cheng Y, Song W, Cheng S. Phylogenetic analysis of canine parvovirus VP2 gene in China. *Transbound Emerg Dis* 2016; 63: e262-9.

Yilma T, Owens S, Fowler M, Bittle J. Vaccines for zoo animals, in: Categories of vaccines according to their target species. In: *Veterinary Vaccinology*. Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C, eds. Amsterdam, Niederlande: Elsevier



Science B. V. 1997: 431-4.

Yoon SH, Jeong W, Kim HJ, An DJ. Molecular insights into the phylogeny of canine parvovirus 2 (CPV-2) with emphasis on Korean isolates: A Bayesian approach. Arch Virol 2009; 154: 1353-60.

Young DW, Haines DM, Kemppainen RJ. The relationship between autoantibodies to triiodothyronine (T3) and thyroglobulin (Tg) in the dog. Autoimmunity 1991; 9: 41-6.

Young KM, Gray CM, Bekker LG. Is obesity a risk factor for vaccine non-responsiveness? PLoS One 2013; 8: e82779.

Yuki M. A case of non-regenerative immune-mediated anemia treated by combination therapy of human immune globulin and mycophenolate mofetil in a dog. Open Vet J 2011; 1: 46-9.

Yule TD, Roth MB, Dreier K, Johnson AF, Palmer-Densmore M, Simmons K, Fanton R. Canine parvovirus vaccine elicits protection from the inflammatory and clinical consequences of the disease. Vaccine 1997; 15: 720-9.

Zalcman S, Minkiewicz-Janda A, Richter M, Anisman H. Critical periods associated with stressor effects on antibody titers and on the plaque-forming cell response to sheep red blood cells. Brain Behav Immun 1988; 2: 254-66.

Zalcman S, Richter M, Anisman H. Alterations of immune functioning following exposure to stressor-related cues. Brain Behav Immun 1989; 3: 99-109.

Zaybak A, Güneş UY, Tamsel S, Khorshid L, Eşer I. Does obesity prevent the needle from reaching muscle in intramuscular injections? J Adv Nurs 2007; 58: 552-6.

Zhang R, Yang S, Zhang W, Zhang T, Xie Z, Feng H, Wang S, Xia X. Phylogenetic

analysis of the VP2 gene of canine parvoviruses circulating in China. *Virus Genes* 2010; 40: 397-402.

Zheng Y, Hao X, Lin X, Zheng Q, Zhang W, Zhou P, Li S. Bacterial diversity in the feces of dogs with CPV infection. *Microb Pathog* 2018; 121: 70-6.

Zhou P, Zeng W, Zhang X, Li S. The genetic evolution of canine parvovirus – a new perspective. *PLoS One* 2017; 12: e0175035.

Zignol M, Peracchi M, Tridello G, Pillon M, Fregonese F, D'Elia R, Zanesco L, Cesaro S. Assessment of humoral immunity to poliomyelitis, tetanus, hepatitis B, measles, rubella, and mumps in children after chemotherapy. *Cancer* 2004; 101: 635-41.

Zuckerman JN. The importance of injecting vaccines into muscle. Different patients need different needle sizes. *BMJ* 2000; 321: 1237-8.

## IX. DANKSAGUNG

Es bedarf vieler Menschen, die eine Dissertation erst ermöglichen. Und so sollen die Menschen, die mir während der verschiedenen Phasen dieses spannenden Projekts eine Hilfe gewesen sind, hier eine besondere Erwähnung finden. Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Katrin Hartmann, die mir durch die Bereitstellung dieses Wunschthemas die Möglichkeit eröffnet hat, an der Medizinischen Kleintierklinik zu lernen und zu arbeiten. Ich konnte mich zu jeder Zeit auf ihre uneingeschränkte Unterstützung in Form von fachlichen Diskussionen, konstruktiven Ratschlägen und vielen, stets hilfreichen, Korrekturen verlassen. Besonders hervorheben möchte ich ihren Enthusiasmus für wissenschaftliches Arbeiten im Allgemeinen und für das Thema Infektionskrankheiten im Besonderen. Dies war mir Inspiration und Ansporn zugleich. Herrn Prof. Dr. Uwe Truyen danke ich sehr für die wunderbare Zusammenarbeit, den fachlichen Austausch und das Korrekturlesen der beiden Publikationen. Frau Dr. Stephanie Speck hatte stets ein offenes Ohr für alle Fragen zu Labormethoden; ihre Expertise und ihr Rat waren für die zweite Studie von unschätzbarem Wert – für all das gilt ihr mein herzlichster Dank. Frau Nadja Leinecker und Frau Dana Rüster danke ich für ihre tatkräftige Unterstützung bei der Bearbeitung der Proben und der Durchführung und Auswertung der zahlreichen Tests. Die Zeit in Leipzig werde ich immer in guter Erinnerung behalten. Herrn PD Dr. Sven Reese und Herrn Prof. Dr. Ralf S. Müller möchte ich für ihre Überlegungen und Hilfestellungen bei der statistischen Auswertung danken. Allen Patientenbesitzern danke ich für ihr Vertrauen und ihre Bereitschaft zu all den Anamnesegesprächen, Untersuchungsterminen und dem gewissenhaften Sammeln unzähliger Kotproben. Ein besonderer Dank gilt auch meiner Kollegin Frau Dr. Maria Guggenberger-Staudacher, die mir nicht nur ihre Praxisräume und -ausstattung, sondern auch ihre Patienten bedingungslos anvertraut hat. Allen Mitarbeitern und Kollegen der Medizinischen Kleintierklinik danke ich für eine unvergessliche und spannende Zeit. Und selbstverständlich gilt mein innigster Dank auch meinen Liebsten zu Hause. Meinem Vater Herbert und meiner Mutter Irmgard, die mir Kraft und Rückhalt gegeben haben, mich diesem Projekt zu widmen. Dir Robert, danke ich von Herzen für Deinen Glauben an mich, Deine Unterstützung und die wundervollen Aufmunterungen, wann immer es nötig war. Vieles wäre ohne Euch nicht möglich gewesen.